RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVII - N. 4 - Ottobre 1956

MALACOFAUNA E SCHISTOSOMIASI NEL MEDIO E BASSO GIUBA

EDOARDO ZAVATTARI

In uno studio pubblicato nel 1938 riassumevo in un quadro d'insieme tutte le notizie che fino a quella data si possedevano sulla presenza, frequenza e distribuzione delle schistosomiasi nell'Africa orientale italiana, vagliando, sia attraverso la critica dei dati forniti dai ricercatori che si erano occupati dell'argomento, sia attraverso mie ricerche personali, quanto era noto tanto sulla malattia, quanto sulla malacofauna in funzione appunto della definizione delle zone di endemia di tali affezioni.

A conclusione di tale disamina formulavo le seguenti affermazioni:

«1°) E' accertata in maniera indubbia la presenza nell'Africa orientale «italiana tanto della schistosomiasi vescicale, quanto di quella intestinale.

«2°) Esistono stazioni di Molluschi ospiti intermedi tanto dello *Schistoso-«ma haematobium*, quanto di *Sch. mansoni;* di queste stazioni quelle di *Planorbis «boissyi* sembrano essere limitate all'Etiopia settentrionale e mancare in quella «meridionale, mentre quelle di *Lymnaea, Bulinus, Physopsis* sono distribuite, «benchè molto irregolarmente, dall'Eritrea fino alla Somalia meridionale.

«3°) Prima della recente guerra (1936-37) non vi era come zona accertata «di endemia della schistosomiasi vescicale che la sola valle inferiore dell'Uebi-«Scebeli; mentre non un solo caso di schistosomiasi intestinale era stato dia-«gnosticato, e molto dubbi erano gli altri pochissimi casi citati di schistosomia-«si vescicale.

4°) Quindi è stato durante la guerra che si è avuta l'importazione della «schistosomiasi intestinale e la estensione dei focolai di schistosomiasi ve-«scicale»

E a documentare le conclusioni a cui ero pervenuto per ciò che riguarda la Somalia, facevo precedere quanto segue:

«I primi reperti di schistosomiasi vescicale nell'Africa orientale si devono «a CROVERI (1915) e poi a VENERONI, il secondo dei quali ha mostrato la grande «frequenza (un terzo della popolazione colpita) di questa forma morbosa nella «regione del basso Uebi-Scebeli. In seguito altri medici (MATTEI, DALRI', ecc.) «hanno confermato il reperto di VENERONI, trovando percentuali anche più alte

« (80%) nella zona di Genale (Dalri'). Notizie raccolte e osservazioni da me « compiute nello scorso anno (1937) in alcune zone del basso Uebi-Scebeli (Goluin, « Bulo-Mererta, Genale, ecc.) hanno recato nuovi elementi a conferma di quanto « era stato precedentemente osservato.

« Le ricerche successive di Mennonna, di Decima, di Tedeschi e Ruffino « hanno inoltre mostrato che anche nella parte alta della valle dell'Uebi-Scebeli « inferiore e nel territorio di Oddur non sono infrequenti i casi di schistosomiasi « vescicale, così che resta oramai assodato in maniera indubbia che tutti i terri- « tori del basso Uebi-Scebeli costituiscono una classica regione di endemia. Nes- « suna notizia si ha per la bassa valle del Giuba, dove si riscontrano condizioni « ambientali simili a quelle della valle dell'Uebi-Scebeli, e dove quindi sembre- « rebbe che questa malattia dovesse essere presente. Per quanto riguarda l'alta « valle del Giuba le indagini da me eseguite lo scorso anno (1937) lungo il Daua « Parma e nel Paese dei Borana hanno dato esito negativo; nessun caso mi è « stato segnalato dai colleghi con i quali ho avuto occasione di incontrarmi, né « alcun caso mi si è presentato ogni qualvolta ebbi occasione di esaminare am- « malati ».

Dopo quella mia rassegna sono comparse, per quanto mi risulta, una mia nota (1942), tre di Lipparoni (1950, 1952, 1953) e due di Moise (1938, 1952), a cui va aggiunta la sommaria comunicazione di Maffi, che appare in appendice a questo mio studio.

Della breve nota di Bacci (1940) non occorre far parola, perchè senza alcun particolare interesse.

La mia nota non è che una messa a punto delle conoscenze che si avevano sulle schistosomiasi a quell'epoca sia per la Libia che per l'Africa orientale, e riportava soprattutto i dati riguardanti i Molluschi ospiti degli Schistosomi. Doveva prevalentemente quella mia nota sgomberare il terreno da tutte quelle citazioni di Molluschi: *Ampullaria, Melania,* ecc. che vari autori, non riuscendo a ritrovare i riconosciuti ospiti: *Physopsis, Biomphalaria,* ecc., avevano pensato di incriminare per giustificare la presenza della malattia.

Le tre note di Lipparoni riguardano esclusivamente il basso e medio Uebi-Scebeli e più particolarmente la zona del Villaggio Duca degli Abruzzi, regione ripetutamente citata e unanimemente riconosciuta come una delle più tipiche regioni somale di endemia della schistosomiasi vescicale.

Particolarmente meritevole di rilievo è la memoria del 1952 (di cui quella del 1953 non è, di fatto, che un riassunto) sul *Bulinus abyssinicus* nella quale sono fornite molte notizie sulle condizioni ambientali, sono illustrati i dati riguardanti la climatologia, il regime e la composizione chimica delle acque, i vari aspetti del terreno e delle colture, sono riportati nuovi dati sulla distribuzione dei focolai di endemia lungo le rive e i territori adiacenti all'Uebi-Scebeli, sono forniti dati sulle percentuali degli ammalati.

Ricerca questa di Lipparoni veramente ben condotta e che potrebbe servire

di guida alle molte altre indagini che dovranno essere compiute nelle restanti zone di endemia della Somalia.

Delle due note di Moise, la più importante è quella pubblicata nel 1952, nella quale l'autore rifà la storia delle conoscenze sulla schistosomiasi nella Somalia, dalla prima segnalazione di Croveri del 1915 fino al 1952. Storia che io avevo già tracciato nel 1938, ma che Moise mostra di ignorare, ignoranza non giustificabile, soprattuto perchè egli si rifà largamente ai lavori di Lipparoni, il quale non dimentica di citare i miei studi e le considerazioni a cui ero pervenuto.

L'unico dato veramente nuovo che Moise riporta è quello riguardante la diretta constatazione dell'« esistenza di importanti focolai di infestazione oltre che lungo il basso e medio Uebi-Scebeli già descritti, anche nella regione degli uar nel Dafét, in quella dei desck del Giuba particolarmente a Dùgiuma e nella regione di Afmadù ». Affermazione non documentata tuttavia da una qualche ricerca, giacchè Moise dichiara « che non ha potuto dedicarsi a ricerche malacologiche e statistiche ».

Cosicchè praticamente egli conferma un dato che già da qualche anno era noto in una forma non molto ben precisata, quella cioè della presenza lungo il Giuba della schistosomiasi vescicale, senza aggiungere qualche elemento veramente sostanziale.

Da ultimo vi è la breve relazione di Maffi, nella quale sono precisati alcuni focolai di schistosomiasi lungo il Giuba, sono riportate alcune interessanti osservazioni sui presumibili periodi dell'anno in cui le possibilità di infestazione da parte dell'uomo sono maggiori, ma nella quale si afferma che a lui non è riuscito di trovare molluschi indubbiamente ospiti dello schistosoma.

Cosicchè allorchè nell'agosto del corrente anno io iniziai e persegui le mie ricerche lungo il medio e basso Giuba non risultava che fossero stati prima d'allora repertati in tutto quel vasto territorio esemplari di *Physopsis*. Tale era infatti quanto affermavano i medici che dirigono le infermerie scaglionate lungo la zona, come del pari una stessa affermazione faceva Maffi, che pure aveva nei mesi precedenti condotta una campagna in tutto il paese.

Le mie ricerche hanno conseguito risultati superiori ad ogni aspettativa.

Seguendo il corso del Giuba da Saco Uen a valle di Bardera fin quasi alla foce ho potuto raccogliere nei terreni che marginano il fiume *Physopsis* in grandissimo numero: a Dùgiuma, Gelib, Cansuma, Margherita, Giambarò, Torda sulla riva sinistra, a Mererei sulla riva destra, nell'Isola Alessandra. Soprattutto a Giambarò e nella zona di Margherita i *Physopsis* si ritrovavano a centinaia. A queste stazioni va aggiunta quella di Jonte, citata in una nota di Pellegrini del 1953, nota che era sfuggita tanto a me, quanto agli altri ricercatori, sia perchè riguardante la schistosomiasi bovina, sia, e soprattutto, perchè Pellegrini non aveva dato il dovuto rilievo al suo reperto, dimostrando in tal modo di non essersi reso conto che tale reperto era di straordinaria importanza, dato

che era il primo rinvenimento di *Physopsis* sul Giuba, mentre da tutti i ricercatori si riteneva che non vi albergasse.

In questo modo sono stati localizzati alcuni tipici focolai, che indubbiamente saranno da ulteriori ricerche collegati fra loro, così da determinare una catena pressochè ininterrotta di stazioni, in piena rispondenza con i già noti focolai di schistosomiasi vescicale.

Personalmente non ho compiuto esami di laboratorio; mi sono solamente limitato ad interrogare le popolazioni, e ovunque mi sono sentito rispondere che la grande maggioranza delle genti, soprattutto i ragazzi, urina rosso, è affetta, cioè, dalla malattia, che in dialetto somalo viene chiamata « Kadi-dik ».

Un controllo microscopico delle urine di tutti coloro che si dichiarano ammalati è praticamente pressochè impossibile, dato l'altissimo numero di affetti e le difficoltà materiali di poter visitare tutti i villaggi con l'attrezzatura di laboratorio necessaria; tuttavia tenuto conto che tutti i casi che vengono controllati microscopicamente nelle infermerie di Gelib e di Margherita risultano costantemente positivi, si può senz'altro ritenere come valida la dichiarazione dei pazienti e quindi affermare che tutti coloro che si dichiarano colpiti da « Kadi-dik » sono di fatto dei bilharziosici, sono tutti parassitati dallo *Schistosoma haematobium*.

Concordemente con quanto riferisce Maffi riguardo alla frequenza dei malati lungo la valle del Giuba, io pure ho potuto constatare che le stazioni di *Physopsis* aumentano sia come frequenza, sia, e soprattutto, come quantitativo di esemplari reperibili, procedendo da Saco Uen verso la foce del fiume, ed è prevalentemente nelle zone di Margherita e di Torda che il quantitativo di *Physopsis* rinvenuto è risultato veramente imponente. Il che coincide con l'altissima percentuale di ammalati.

Con i miei reperti resta pertanto definitivamente assodato che, come ovunque, anche sul Giuba l'ospite intermedio dello *Schistosoma heamatobium* è il *Physopsis*. Cadono pertanto tutti i dubbi e tutte le incertezze che ancora permanevano.

Come osserva Maffi, il fiume non costituisce un ambiente adatto per la vita dei *Physopsis;* le acque del Giuba sono veloci, rapide, così da non permettere l'insediamento dei Molluschi; ma il Giuba giuoca il suo ruolo fondamentale in quanto è con le sue acque che vengono allagati i descec, i billic, i far (1); è con le brecce che vengono aperte lungo le rive alla epoca delle semine che vengono innondate le aree destinate alla coltivazione del cotone, dei banani, dei cereali, creandosi in tal modo ambienti optimum per la vita dei Molluschi.

I quali Molluschi vanno ricercati durante gli allagamenti, soprattutto nei

(1) Con: descec, bilic, far, ecc. si indicano tanto le aree che vengono inondate, sia durante le piene del Giuba sia quando vengono aperti gli argini per allagare le aree coltivate, quanto l'innondazione stessa.

canali che intersecano i campi coltivati e dove l'acqua ristagna a lungo; mentre durante il periodo del secco si rinvengono ai margini dei descec fra la boscaglia, dove si raccolgono abbondantemente forse perchè ivi più a lungo si mantiene l'umidità o forse perchè più facilmente sfuggono alla grande distruzione che indubbiamente ne fanno gli stormi di Ibis, Sfenorinchi, Oche, ecc. che a centinaia vivono sulle rive del fiume e guazzano nelle acque dei pantani.

Ciò sembra corrispondere al vero, qualora si ricordi che sui descec asciutti sono disseminati a migliaia i nicchi di Molluschi: dai grossi *Pila, Achatina, Lanistes,* ai piccoli *Cleopatra, Zingis, Ligatella,* e in numero sterminato frammenti di questi nicchi, mentre non si ritrovano che eccezionalmente nicchi di *Physopsis,* senza dubbio per il fatto che data la loro fragilità vengono polverizzati e ridotti in così piccoli frammenti da non poter essere assolutamente riconosciuti.

Le constatazioni sopradette riguardo alle condizioni con cui si presentano le acque e il larghissimo uso che se ne fa a scopo di irrigazione nel medio e basso Giuba, spiegano la ragione dell'assenza della schistosomiasi nell'alta valle del Giuba, dove non si praticano le sopraricordate colture. Maffi riferisce che né a Lugh Ferrandi, né a Dolo è presente la malattia; ed io, come è sopra ricordato, già nel 1937 ne avevo constatata l'assenza nei Borana e nei Galla, vale a dire nella regione in cui scorrono le tre radici: Daua Parma, Canale Doria, Uebi Gestro, che con il loro confluire danno origine al Giuba.

L'ipotesi che Maffi formula riguardo ai periodi dell'anno, in cui maggiori sono le possibilità di infestazione da parte dell'uomo, meritano di essere prese in considerazione e controllate. Naturalmente occorrerà un lungo periodo di osservazioni e di statistiche prima di poter loro attribuire un indubbio valore.

* * *

Rimane ora da trattare dell'identificazione specifica dei *Physopsis* del Giuba.

Mozley nel suo manuale, veramente ottimo ai fini pratici, sui Molluschi ospiti intermedi degli schistosomi in Africa, a proposito di *Schistosoma haematobium* cita due specie soltanto:

Bulinus contortus per l'Africa a nord del Sahara;

Physopsis globosa per l'Africa a sud del Sahara;

e per quanto riguarda quest'ultima scrive: « *Physopsis africana* and *Physopsis ovcidea* are either synomyms of *Physopsis globosa,* or are so very closely related to it that their identification is difficult ».

Il Prof. Piersanti, che ha avuto la cortesia, di cui lo ringrazio, di determinare i Molluschi da me raccolti sul Giuba, attribuisce i *Physopsis* da me riportati a *Physopsis soleilleti* Bourg., specie, come mi scrive Piersanti, « che i sistematici distinguono da *Physopsis africana* perchè più piccola e perchè un po' irregolarmente gibbosa presso la linea di sutura dell'ultimo anfratto ».

Secondo LIPPARONI (1952) i *Physopsis* dell'Uebi-Scebeli, determinati dal Dr. G. MANDAHL-BAHRT specialista dell'acquario di Charlottenlund, vanno attribuiti a *Bulinus* (*Physopsis*) *abyssinicus* v. Marts, e parimenti a questa stessa specie appartengono, secondo PELLEGRINI, i *Physopsis* di Jonte.

Cosicchè saremmo di fronte a questa sconcertante situazione:

Ph. abyssinica sull'Uebi-Scebeli (teste LIPPARONI);

Ph. abyssinica a Jonte sul Giuba (teste PELLEGRINI);

Ph. soleilleti lungo tutto il Giuba (teste ZAVATTARI-PIERSANTI);

Ph. africana Etiopia meridionale (teste BACCI 1951).

Ora i due nomi: *Ph. abyssinica* e *Ph. soleilleti* non compaiono nelle opere che trattano dei Molluschi ospiti di Schistosomi; non sono infatti citati, fra gli altri, nè da GIRGES, né da NEVEU-LEMAIRE, né da MOZLEY.

Viceversa nel catalogo dei Molluschi dell'Etiopia e della Somalia di BACCI (1951) sono elencate, con a fianco le località di rinvenimento (pag. 38), le seguenti specie di *Physopsis*.

Ph. africana Krauss; Territorio dei Giam Giam, Bacino del Lago Stefania;

Ph. africana abyssinica v. Marts.; Abissinia meridionale;

Ph. meneliki Bourg.; Fiume Auasc;

Ph. soleilleti Bourg.; Fiume Auasc, Bacino del Lago Stefania.

Come osserva MOZLEY le specie di *Physopsis* sono estremamente affini e molto difficilmente differenziabili. Fatto questo ben noto per non pochi generi di Molluschi d'acqua dolce, data la loro estrema variabilità in dipendenza del tenore salino delle acque, della velocità della corrente, della stagione; per cui è molto verosimile che *Ph. africana*, *Ph. ovoidea*, *Ph. abyssinica*, *Ph. soleilleti*, *Ph. meneliki*, non siano che varietà, se pure lo sono, dell'unica specie *Ph. globosa*, nome quest'ultimo adottato da MOZLEY e che qui viene seguito. Basterà tener presente che *Ph. meneliki* e *Ph. soleilleti* sono state raccolte contemporaneamente nell'Auasc da SOLEILLET, e che *Ph. africana* e *Ph. soleilleti* sono state raccolte da me nel Bacino del Lago Stefania nel 1939, durante la Missione biologica Sagan-Omo.

D'altra parte sembra impossibile ammettere che lungo tutto il Giuba viva *Ph. soleilleti* e solo a Jonte *Ph. abyssinica;* come pure si rimane molto perplessi ad accettare che i *Physopsis* del Giuba siano differenti da quelli dell'Uebi-Scebeli.

Per cui ritengo che ai fini epidemiologici per quanto riguarda il problema della schistosomiasi si debbano considerare i *Physopsis* della Somalia come tutti riferibili a *Ph. globosa*, secondo la nomenclatura adottata da MOZLEY; tralasciando di prendere in considerazione le oltremodo controverse questioni di sistematica dei *Physopsis*, perchè sono convinto, ripeto, che non si tratti di buone specie, ma di varietà, o fors'anche di semplici forme, di una specie polimorfa, che deve il suo polimorfismo ai fattori ambientali, fattori che evidentemente

sono differenti da zona a zona. Chi ha, come ho io, una profonda conoscenza dell'Africa orientale per averla largamente percorsa, potrà facilmente rendersi conto che la mia affermazione è conseguente all'esperienza acquistata viaggiando nei paesi tropicali.

* * *

La constatazione dell'altissimo numero di bilharziosici sul medio e basso Giuba pone impellente il problema della necessità di intraprendere la lotta contro la schistosomiasi vescicale. Necessità che si profila anche più urgente in considerazione che, come osserva anche MAFFI, con la progettata estensione delle colture lungo il Giuba, si avrà un considerevolissimo aumento della morbilità in tutta la zona.

Non ci si possono tuttavia già a priori non prospettare le enormi, direi pressochè insuperabili, difficoltà che si frappongono ad una lotta che possa sortire a risultati apprezzabili.

Poichè non è possibile sottoporre a cura medica tutti o la massima parte degli ammalati, dato il loro altissimo numero, è ovvio che la lotta si dovrà impostare sulla distruzione dei Molluschi. Ma ad un risultato positivo si oppongono due elementi fondamentali: la grande estensione del territorio in cui vivono i *Physopsis*, che dovrebbe essere bonificato; e la necessità di irrigare vastissime zone ai fini delle coltivazioni. La distruzione dei *Physopsis* importa o l'impiego di sostanze tossiche, delle quali alcune sono nocive alle piantagioni, a prescindere dalle difficoltà di aggredire la massima parte dei focolai, o il disseccamento prolungato delle aree attualmente infestate. Ma questo secondo metodo cozza contro il mantenimento delle coltivazioni; che, se interrotte per lungo tempo, provocherebbero ingentissimi danni ai concessionari e alle popolazioni. Per cui il problema si presenta irto di difficoltà, mentre d'altro lato sarebbe pur necessario cercare almeno di infrenare il dilagare della malattia, sarebbe necessario cercare almeno di ridurre progressivamente le zone di endemia.

Il problema viene qui posto in tutta la sua cruda realtà; occorrerà esaminarlo in tutti i suoi aspetti e vedere se qualche soluzione, anche parziale, può essere tentata. Pur troppo i tentativi condotti in altri paesi dell'Africa, dove le schistosomiasi sono endemiche, non sono stati coronati da grandi successsi.

Per cui è più per il dovere che ogni medico ha di prospettare la necessità di arginare e ridurre una endemia, che non per la convinzione che si possano conseguire tangibili risultati, ch'io addito il problema della necessità della lotta contro la schistosomiasi vescicale alle autorità politiche e sanitarie della Somalia, augurandomi che la questione venga presa in serio esame ai fini di un qualche utile tentativo, augurandomi che le mie piuttosto pessimistiche previsioni risultino fallaci, del che sarei io il primo a rallegrarmi.

A facilitare il riconoscimento dei Molluschi gasteropodi più frequenti che vivono negli stessi ambienti in cui vivono i *Physopsis*, faccio seguire, accompa-

gnandolo con una tavola illustrativa, l'elenco delle specie da me raccolte durante le mie ricerche.

Lanistes boltenianus Bourg.
Pila ovata Oliv.
Ligatella dauensis Kob.
Cleopatra pauli Bötgr.
Bulinus forskali Ehrb.
Achatina pautkera Fòr.
Achatina fulica Fèrss.
Limicolaria rüppelliana Pfr.
Limicolaria roemeri Kob.
Zingis simulans v. Marts.
Zingis bonhourei Roch. Germ.

* * *

Quale appendice alle mie ricerche faccio seguire nelle pagine seguenti, alle quali rimando per i riferimenti da me qui riportati, stralciato da una relazione illustrante una inchiesta epidemiologica compiuta in Somalia, il breve capitolo relativo alla Schistosomiasi, redatto dal Dott. MARIO MAFFI, che condusse la non facile e faticosa inchiesta.

* * *

All'atto di chiudere questo studio mi è gradito dovere porgere i miei vivi ringraziamenti al Segretario Generale dell'A.F.I.S. Ministro M. FRANCA e all'Ispettore dei Servizi Sanitari Dr. I. GENTILINI per tutte le cortesie e facilitazioni usatemi e particolarmente per aver messo a mia disposizione un mezzo di trasporto; ed un uguale ringraziamento rivolgo ai Funzionari e ai Colleghi Medici che hanno facilitato il mio lavoro.

Un particolare ringraziamento infine rivolgo a Padre GOFFREDO dei Minori e alle Religiose della Missione Cattolica di Gelib, dove tanto cordialmente mi hanno ospitato durante la mia permanenza sul Giuba, ospitalità che ha grandemente facilitato le mie ricerche, evitandomi di dover impostare un pur modestissimo piano logistico, qualora avessi dovuto provvedere direttamente all'allestimento di un alloggiamento e ai relativi servizi.

APPENDICE

Da: MARIO MAFFI, *Inchiesta sulla Malaria, la Bilharziosi e le Treponematosi nella zona del Fiume Giuba*, (18 *gennaio-23 febbraio* 1956). Relazione presentata all'A.F.I.S. Direzione dello Sviluppo Sociale, in data 2 Marzo 1956. (pagg. 18-19). Mogadiscio.

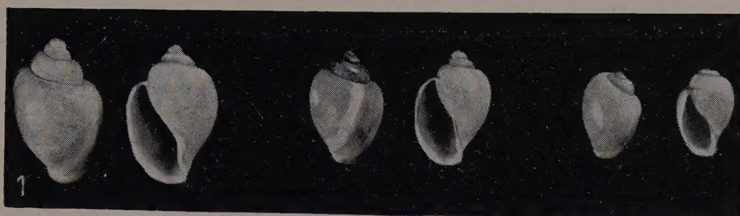
La Bilharziosi vescicale pare l'affezione più comune e più diffusa su tutta la fascia del Giuba, da Bardera a valle.

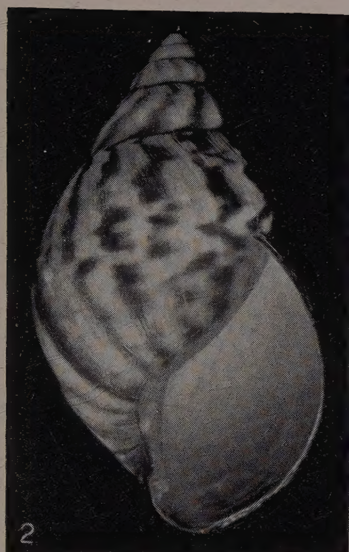
A Bardera sembra essere rara, fra i bimbi delle scuole; per notizie raccolte, assai frequente nelle zone rivierasche, specie in riva destra.

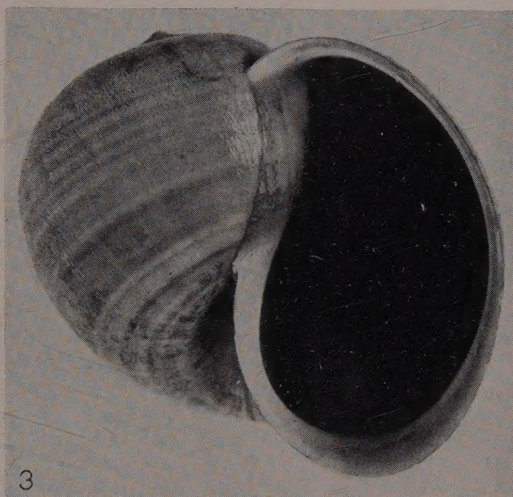
A monte di Bardera, sembra estinguersi; certo, a Lugh Ferrandi e Dolo non esiste.

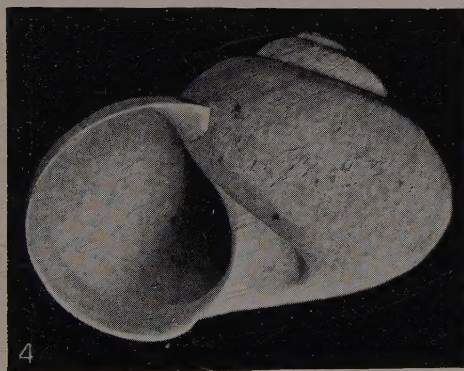
A valle di Bardera, risulta molto diffusa nella zona di Gurmessa e a Saco Uen. Poi è comune ovunque, in misura che investe più o meno i due sessi e le varie età.

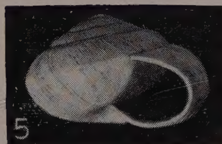
A tale proposito è tuttavia chiaro che è eccezionale nella prima e seconda infanzia e sino ai 7-8 anni; che è frequentissima nei ragazzi fra i 10 ed i 15; che le donne sembrano meno colpite degli uomini; che, nelle comunità cittadine, mentre sono colpiti

















1 - *Physopsis globosa* (Morelet), Giambarò (Margherita); sei esemplari di differente grandezza. - (tutte le figure a grandezza naturale)
2 - *Limicolaria rüppelliana* Pfr., Gelib.
3 - *Pila ovata* Oliv., Gelib.
4 - *Lanistes boltenianus* Bourg., Isola Alessandra.
5 - *Zingis simulans* v. Marts., Gelib.
6 - *Cleopatra pauli* Bötgr., Margherita.
7 - *Bulinus forskali* Ehrg., Isola Alessandra.
8 - *Ligatella dauensis* Kob., Gelib.

i ragazzi delle scuole, le scolare risultano raramente colpite (Margherita, Torda). A tutto ciò verrà proposta una spiegazione più oltre.

Territorialmente è di fondamentale interesse vedere come la bilharziosi vescicale sia estremamente diffusa in zone come Omboi (colpiti il 50% dei 90 ragazzi sotto i 16 anni visitati per malaria), che è lontano dal fiume ma è fornito da un ampio billic; come Burgani, sito sulla duna, ma le cui sciambe sono nella piana; come Torda (50% dei 32 ragazzi delle scuole), che viene raggiunto, nella piana, in der (settembre - ottobre - novembre) da un descec. (1)

Dove ci si dice che v'è bilharziosi, specie se lontano dal fiume, vediamo un terreno caratteristico, con aspetto che denunzia un'origine alluvionale, recente (Giuba) o remota (vecchio corso dello Scebeli, come sotto Burgani), coperto di residui di una malacofauna abbondatissima, comprendente varie specie.

Tali terreni sono molto fertili, atti alle colture di sesamo, cotone, granoturco, riso (in talune zone).

Il fiume gioca un ruolo secondario, indiretto, di puro apporto di acqua alle comuni e vantaggiose sedi per la malacofauna (descec, billic, far): qui si contrae la bilharziosi vescicale, non nelle acque del fiume.

Questo spiega come vi sia un primo periodo della vita nel quale non si contrae la bilharziosi; come vi vadano soggetti gli uomini che lavorano in descec (o in canale di concessione) ed i ragazzi, quando cresciuti, sono padroni di andarvi; come il ramo morto di Margherita infetti gli scolari, che vi si bagnano, ma non le scolare.

Se si interrogano i pazienti su quando abbiano notato l'inizio della malattia, tutti concorderanno nel dirvi: gilal (dicembre - gennaio - febbraio). Qualcuno l'ha notata in gu (aprile - maggio).

Questo conferma (attraverso il tempo necessario alle varie fasi fisiologiche e patologiche per il mollusco, e patologiche per l'uomo) una infestazione di mesi prima, in der, classica epoca in descec.

Del resto è da aggiungere che se è vero che gli ammalati di Torda incolpano il caldo, quelli della zona di Saco Uen, la ricollegano al mangiare bulbi particolari (domal o bocora) (2), proprii delle zone di descec.

Attualmente è impossibile trovare un solo malaco vivente, sia ciò dovuto alla stagione, che coincide forse con la fine del ciclo annuale di vita del mollusco o alla strage operata, ad acque basse, dai nemici naturali (Ibis sacro, Oca del Nilo, Sfenorinco, Nitteria, e, soprattutto, Anastomo), o che per pura ipotesi, il vettore sia un'altra specie; del *Physopsis* sp. in particolare nessuna traccia; nemmeno gusci di questo.

Il problema è dunque totalmente aperto. Se sullo Uebi Scebeli il *Physopsis* c'è, ed è infettante (Lipparoni), per il Giuba bisognerà cercarlo in tempo più adatto, dopo le piogge.

Il collega Baruffa, a Gelib, si sta interessando di definire in maniera più esatta, microscopicamente, le reali percentuali d'infestazioni nelle popolazioni del luogo.

Il problema della bilharziosi vescicale, a lungo trascurato, potrebbe assumere nuova importanza dalla incrementata creazione di descec, a scopo agricolo, nella zona del basso Giuba. Lo si ritiene quindi degno di considerazione.

RIASSUNTO

Vengono segnalati numerosi focolai di *Physopsis globosa*, lungo il medio e basso Giuba, nessuno dei quali era prima d'ora conosciuto. Con tali reperti viene definitivamente risolto il problema della presenza del riconosciuto ospite intermedio di *Schisto-*

(1) Le percentuali riportate sono desunte dalla sola anamnesi, e quindi hanno valore relativo. Tuttavia la bilharziosi viene facilmente dichiarata.

(2) *Nymphaea zanzibariensis* Casp.; con: bocora, viene chiamata una parte del fiore; con: domal, le radici.

soma haematobium in una regione in cui il mollusco non era stato ancora trovato e nella quale la schistosomiasi vescicale è larghissimamente diffusa, così da colpire circa i due terzi della popolazione.

Viene conseguentemente prospettata la necessità di iniziare una lotta per infrenare la diffusione dell'affezione, pur facendo presenti le enormi difficoltà che si frappongono al conseguimento di risultati concreti.

SUMMARY

Numerous breeding places of *P. globosa*, all of them still unknown until now, were found along the middle and low Giuba river. With such findings the autohr definitely solves the problem of the presence of the recognized intermediate host of *S. haematobium* in a region where the snails had not yet been found, and where urinary schistosomiasis is largely spread, so much that two thirds of the total population is affected.

The author points out to the need of starting a campaign to control the diffusion of the disease, and mentions the great difficulties which, however, must be met in order to achieve satisfactory results.

BIBLIOGRAFIA

BACCI G. (1940): Molluschi dell'Africa Orientale Italiana ospitatori di Trematodi parassiti (sic). *Boll. Idrob. Caccia, Pesca dell'A.O.I.* I. 113-116.

BACCI G. (1951-52) Elementi per una Malacofauna dell'Abissinia e della Somalia. *Ann. Mus. civ. St. Nat.* Genova LXV, 1-144.

GIRGES R. (1934): Schistosomiasis (Bilharziasis). J. Bale, Son & Danielsson, London.

LIPPARONI E. (1950): Note di epidemiologia della schistosomiasi vescicale nella zona del medio Uebi Scebeli e rilievi circa la profilassi e terapia. *Arch. Ital. Sc. med. trop. Parass.* XXXI, 769-775.

LIPPARONI E. (1952): Presenza del Bulinus abyssinicus (v. Martens) nella zona del medio Uebi-Scebeli e rilievi sul suo habitat locale. *Riv. Parass.* XIII, 309-314.

LIPPARONI E. (1953): Ricerche e identificazione dei Molluschi potenziali ospiti intermedi della schistosomiasi vescicale in Somalia nella zona del Medio Uebi-Scebeli e rilievi sul loro « habitat » locale. *Ann. Soc. Med. Igien. Trop. della Somalia. Mogadiscio*, I, 53-55.

MOISE R. (1938): Osservazioni sulle Elmintiasi d'interesse epidomiologico in Somalia (1932-1937). *Ann. Med. Nav. Col.* XLIV, 444-451.

MOISE R. (1952): Ancora sulle elmintiasi di interesse epidemiologico in Somalia (Anchilostomiasi e Schistosomiasi) e sull'adozione dei sistemi per combatterle. *Ann. Med. Nav. Trop.* LVII, 279-297.

MOZLEY A. (1951): The Snail Hosts of Bilharzia in Africa, Their Occurrence and Destruction. H. K. Lewis & Co. London.

NEVEU-LEMAIRE M. (1936): Traité d'Helmintologie médicale et vétérinaire. Vigot Fr. Paris.

PELLEGRINI D. (1953): Alcune osservazioni sulla schistosomiasi bovina in Somalia e segnalazione del Bulinus abyssinicus nella regione del basso Giuba. *Riv. Parass.* XIV, 15-17.

PIERSANTI C. (1941): Mollusca, in: Missione Biologica Sagan-Omo; XII, 263-282 *R. Accademia d'Italia*, Roma.

ZAVATTARI E. (1938): I problemi sanitari dell'Impero: schistosomiasi e malacofauna nell'Africa Orientale Italiana. *Ann. Igiene, XLVIII*, 573-582.

ZAVATTARI E. (1942): Le Schistosomiasi nell'Africa Italiana. *Rass. Soc. Africa Ital.* V, n. 11, 2-12.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVII - N. 4 - Ottobre 1956

OSTERTAGIA (*OSTERTAGIA*) *MOSSI* (DIKMANS, 1931) PARASSITA DELL'ABOMASO DEI BOVINI E DEI CAPRINI

MARIO LAI (*)

E' noto che cinque specie di strongili del genere *Ostertagia* (RANSOM, 1907) sono state repertate esclusivamente in ruminanti appartenenti alla famiglia dei Cervidi. Esse sono: *Ostertagia* (*Spiculopteragia*) *asymmetrica* (WARE, 1925), repertata nell'abomaso di *Dama dama; Ostertagia* (*Spiculopteragia*) *cervi* (CAMERON, 1931), repertata nell'abomaso e nel duodeno di *Cervus elaphus; Ostertagia* (*Spiculopteragia*) *houdemeri* (SCHWARTZ, 1927), repertata nell'abomaso di alcuni Cervidi di cui non è specificata la specie; *Ostertagia* (*Ostertagia*) *odocoilei* (DIKMANS. 1931), repertata nell'abomaso di *Odocoileus virginianus; Ostertagia* (*Ostertagia*) *mossi* (DIKMANS, 1931), repertata anch'essa nell'abomaso di *Odocoileus virginianus* in Pennsylvania.

DIKMANS, a proposito di *Ostertagia mossi,* disse che: « gli spicoli misurano 170 - 190 micron e sono di colorito bruno - giallastro - chiaro; nel quarto distale essi si dividono in tre processi: uno dorsale e due ventrali. Il processo dorsale si assottiglia e termina a punta smussa; i processi ventrali sono appuntiti e quello ventrale esterno è più lungo e termina a punta aguzza ed incurvata. Il « *gubernaculum* », a forma di remo, misura 60 - 70 micron. La struttura delle coste della borsa caudale è simile a quella delle altre specie del genere, ad eccezione della costa dorsale che è, come al solito, bifida con le estremità divise, senza processo accessorio ». Sempre secondo DIKMANS, nella femmina, la vulva è rappresentata da una fenditura trasversale ricoperta oppure no da una membrana diretta in senso antero - posteriore.

TRAVASSOS (1937), nella sua monografia sulla famiglia *Trichostrongylidae,* fa presente che *Ostertagia mossi* « rassomiglia moltissimo a *Ostertagia ostertagi,* dalla quale tuttavia si differenzia per la costa dorsale ». Pertanto l'A. è

(*) *Istituto di Patologia Generale e Anatomia Patologica veterinaria dell'Università di Sassari* e *C.N.R. Centro di Studio per la Parassitologia Veterinaria.* (Direttore: Prof. A. CARTA).

dell'avviso che un ulteriore e più approfondito studio necessiti per identificare meglio questo parassita.

Nel corso di indagini da me istituite per accertare le specie parassitarie che in Sardegna sostengono la strongilosi gastro-intestinale dei ruminanti (bovini, ovini e caprini), nell'abomaso di un certo numero di bovini e di caprini ho repertato, tra l'altro, certi strongili appartenenti al genere *Ostertagia*, che per la particolare morfologia ho giudicato riferibili alla specie *Ostertagia mossi* (Dikmans, 1931).

Con questa nota intendo appunto illustrare la morfologia di questi parassiti, la cui presenza non era stata ancora segnalata nel Continente Europeo e neppure nei ruminanti domestici (bovini e caprini).

Nell'allegata tabella sono riportate le misurazioni praticate su esemplari di *Ostertagia mossi* repertati da Dikmans e da me, rispettivamente, nell'abomaso di *Odocoileus virginianus* della Pennsylvania e nell'abomaso dei bovini e dei caprini della Sardegna.

Ostertagia mossi	*Dikmans*		*Osservazioni personali*	
Diametro della testa	16	micron	16	micron
Lunghezza dell'esofago	740-770	»	770-790	»
Larghezza massima dell'esofago	62	»	54-66	»
Distanza dell'anello nervoso dalla estremità cefalica			260-280	»
Distanza delle papille cervicali dalla estremità cefalica	320	»	320-350	»
Maschio				
Lunghezza	7	mm	6,5-7,2	mm
Larghezza	90	micron	95-100	micron
Lunghezza degli spicoli	170-190	»	150-185	»
Lunghezza del «*gubernaculum*»	60-70	»	60-75	»
Femmina				
Lunghezza	9	mm	8-9	mm
Larghezza	110	micron	100-130	micron
Lunghezza degli ovojettori	280-330	»	265-290	»
Distanza dell'ano dall'estremità posteriore	170	»	150-170	»
Dimensioni delle uova	77-80 X 38	»	75-78 X 36-40	»

Orbene, siccome effettivamente esiste, come fa osservare Travassos, una certa rassomiglianza fra *Ostertagia ostertagi* e *Ostertagia mossi*, alla descrizione di Dikmans, invero un po' sommaria, ritengo opportuno aggiungere qual-

che particolare che consenta di differenziare compiutamente le anzidette due specie parassitarie.

Pertanto metto in rilievo che la cuticola di rivestimento del parassita presenta 32 - 34 linee longitudinali disposte ad intervalli irregolari che, osservate a forte ingradimento, presentano un aspetto moniliforme, caratteristico. In corrispondenza dell'estremità cefalica le linee longitudinali sono interrotte da

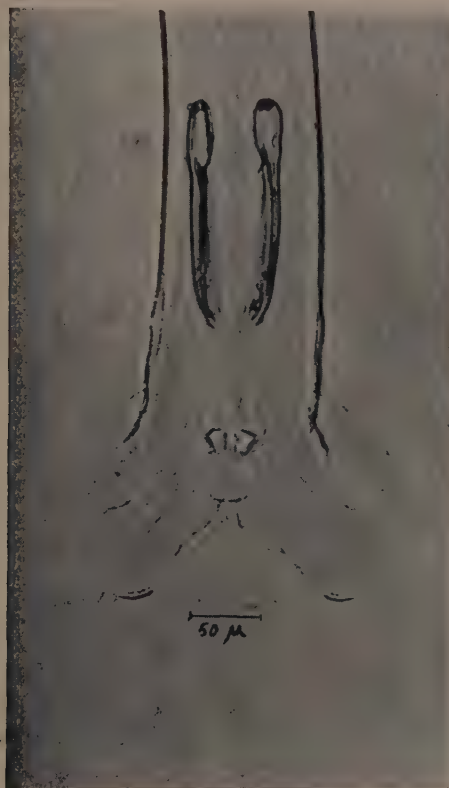


Fig. 1. — *Ostertagia mossi* .
Borsa caudale e spicoli (microfotografia).



Fig. 2. — *Ostertagia mossi* .
Regione vulvare (microfotografia).

una serie di striature trasversali; nella femmina esse risultano interrotte anche in corrispondenza dell'estremità caudale. Il processo ventrale interno degli spicoli è pressochè rettilineo ed assottigliato all'estremità; l'estremità distale del processo dorsale termina in un disco ialino di fattura particolare. Le papille prebursali, poco sviluppate, distano 65 - 70 micron dalle coste ventrali. La borsa caudale, allorchè è distesa, misura 270 - 300 micron; la membrana dorsale della borsa caudale è ben differenziata dalle membrane laterali che si

presentano ben sviluppate ed a forma irregolarmente ovolare. La costa latero-ventrale, all'altezza del terzo medio, si stacca nettamente dalla costa ventro-ventrale; descrive un arco a breve raggio dirigendosi in avanti e la sua punta si porta vicino ed a lato di quella della costa ventro-ventrale quasi al margine della borsa; le coste antero- e medio-laterale hanno press'a poco la stessa lunghezza e le loro estremità sono divergenti; la costa postero-laterale è più corta e più sottile delle due precedenti; le estremità delle coste medio- e postero-laterale si portano fin presso il margine della borsa; la costa latero-dorsale nasce dal tronco principale della costa dorsale ed è relativamente robusta. Il tronco principale della costa dorsale è largo, alla sua origine, 15-18 micron; a 25-30 micron dall'origine esso si biforca dando luogo a due rami laterali lunghi 20 micron circa. L'estremità distale di detti rami si biforca nuovamente dando origine ad un ramo esterno e ad un ramo interno, il quale, in prossimità della sua base è munito di un piccolo processo esterno, ben evidente a forte ingrandimento (500 diametri circa). La membrana accessoria della borsa caudale è sostenuta da due piccole coste disposte a forma di « *V* » rovesciato con le estremità curvate. E' presente anche una « membrana interna », analoga a quella descritta da Orloff in *Ostertagia ostertagi*. Nella femmina l'estremità caudale presenta numerose striature.

Dunque, la presenza di un processo accessorio sito nei rami laterali della costa dorsale al lato esterno del ramo interno dell'ultima suddivisione, è l'unico carattere che differenzia la specie di *Ostertagia* repertata da me in Sardegna da quella repertata da Dikmans in Pennsylvania. Ma in proposito faccio presente che, specialmente quando la borsa caudale del parassita è distesa, i due margini interni delle membrane laterali tendono a collabire fra il loro; pertanto la membrana dorsale viene ad essere compressa ed i due rami laterali della costa dorsale vengono a trovarsi paralleli, come appare appunto nel disegno della borsa caudale che Dikmans riporta nel suo lavoro. In queste condizioni è molto difficile, cioè, rilevare il piccolo processo in questione che, inoltre, è visibile solo a forte ingrandimento. Quindi potrebbe essere che la suddetta particolarità sia sfuggita all'osservazione di Dikmans e comunque ritengo che essa da per sè non sia sufficiente per infirmare il giudizio formulato sui parassiti da me repertati. Tuttavia è auspicabile un diretto raffronto fra gli esemplari che si repertano in Pennsylvania e gli esemplari che si repertano in Sardegna.

Esistono invece diverse particolarità morfologiche che consentono una sicura differenziazione fra *Ostertagia ostertagi* e *Ostertagia mossi*. Gli spicoli sono più corti e di colorito sensibilmente più scuro in *Ostertagia mossi;* i processi terminali, sebbene presentino una certa rassomiglianza, hanno forma diversa nelle due specie. Le coste ventrali in *Ostertagia ostertagi* decorrono vicine e pressochè parallele, a differenza di quanto avviene in *Ostertagia mossi*, come è stato prima detto. Inoltre le estremità delle coste medio- e postero-la-

terale terminano ad una certa distanza tra di loro in *Ostertagia mossi*, mentre sono più ravvicinate in *Ostertagia ostertagi*. Il tronco principale della costa dorsale è più lungo e più sottile in *Ostertagia ostertagi* e le due biforcazio-

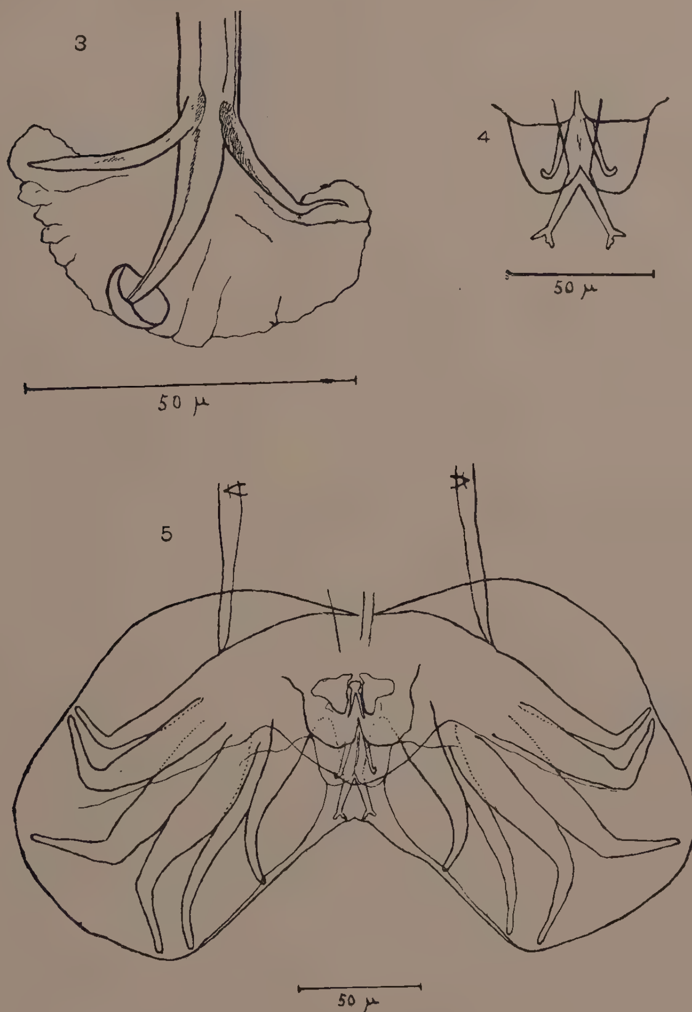


Fig. 3. — *Ostertagia mossi* ♂. Estremità distale dello spicolo.
Fig. 4, id.: Particolare della costa dorsale
e della membrana accessoria della borsa.
Fig. 5, id.: Borsa caudale.

ni sono più corte. Altro carattere differenziale di grande importanza è dato dalla particolare morfologia del cono genitale e della membrana accessoria della borsa caudale assai diversa nelle due specie. Per differenziare le femmine delle due specie basta prendere in considerazione invece la diversa struttura della membrana che ricopre la regione vulvare.

Infine, a mio avviso, sarebbe interessante stabilire se *Ostertagia mossi* in Sardegna è diffusa anche nei ruminanti che vivono allo stato selvatico (mufloni, cervi, ecc.) ed in caso affermativo determinare, quindi, se esiste qualche relazione fra l'infestione dei ruminanti selvatici e quella dei ruminanti domestici (bovini e caprini).

Ma, per il momento, il fine di questa nota è stato limitato a segnalare e ad illustrare *Ostertagia mossi* tra i bovini e i caprini e nel Continente Europeo (Sardegna).

RIASSUNTO

L'A. segnala il reperto dell'*Ostertagia mossi* (Dikmans, 1931) nei bovini e nei caprini della Sardegna.

SUMMARY

The occurrence of *Ostertagia mossi* (Dikmans, 1931) in cattle and goats of Sardinia is reported.

BIBLIOGRAFIA

Dikmans G. (1931): Two new species of nematode worms of the genus *Ostertagia* from the Virginia Deer with a note on *Ostertagia lyrata*. *Proc. U.S. Nat. Mus.* *79*, art. 6.

Imp. Bur. of Agric. Paras. (1931): The Helminth Parasites of Deer.

Orloff I. W. (1933): Sur la reconstruction de la systematique du genre *Ostertagia* Ransom, 1907. *Ann. Par. Hum. et Comp. 11*, 26.

Skrjabin K. I. - Orloff I. W. (1934): I Trichostrongilidi dei ruminanti (in russo) Mosca.

Travassos L. (1937): Revisao da Familia *Trichostrongylidae* Leiper, 1912, Rio de Janeiro.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVII - N. 4 - Ottobre 1956

OBSERVATIONS ON THE BEHAVIOUR AND CONTROL OF HOUSEFLIES IN A RURAL AREA IN ISRAEL

II (*). A Laboratory and Field Study of Diazinon (0,0-diethyl-0-2-isopropyl 1-4-methyl-pyrimidil-6-thiophosphate) as a Larvicide.

G. G. MER and R. CWILICH (**)

Previous observations on the breeding, behaviour and the resistance to insecticides of the housefly, *Musca domestica vicina* Macq., in rural areas have led to the conclusion that « the reduction of fly density in rural areas by controlling fly breeding is indicated in order to be able to alleviate on the fly nuisance in direct way to reduce fly density is by the use of larvicides. To this end labodirect way to reduce fly density is by the use of larvicdes. To this end laboratory and field observations were conducted on Diazinon (Geigy), in the form of wettable powders containing 10 and 40% of the active agent, as a fly larvicide.

Laboratory Breeding Tests

Flies were bred in glass jars containing 500 cc of the usual breeding medium in which a weighed quantity of Diazinon WP in 1 gm of talc had been thoroughly mixed. Talc alone was added to the breeding medium in the control jars. 400 + 20 eggs were added to each jar on the same day and all the jars were kept at same temperature and humidity.

The pupae in each jar were counted on the day on which the first fly emerged. The number of pupae obtained from the control jars was within normal limits obtaining for the strain of flies bred under the standards conditions described, i.e. the average number of pupae per jar was 364 with fiducial limits $p=0.05$ of 358-370.

Eggs laid by flies of the fifty-second generation of the laboratory strain

(*) *The second progress report of studies carried out at the Malaria Research Station, Rosh Pina, Israel*, 1954.

(**) *Malaria Research Station of the Hebrew University, Rosh Pina.*

were used for the first breeding test in media containing Diazinon. In these test four consecutive generations of flies were bred in medium contining 1 part (active) of Diazinon to 2 million parts of the breeding medium. The results are summarized in Table 1.

Subsequent to these tests, 21 consecutive generations of flies were bred in medium containing 1 part (active) of Diazinon to 1 million parts of the medium. The first generation of flies in this series was bred from eggs laid by flies of the fourth generation of the preceding series. The results are summarized in Table II.

Finally, an attempt was made to select flies with maggot resistance to a Diazinon concentration of 1 part to 500,000 parts of the breeding medium. Table III shows the breeding response to this concentration.

TABLE 1

Breeding response of 4 consecutive generations of flies in a breeding medium containing 1 part (active) Diazinon per million parts medium.

Generation	No. of breeding jars	Average No of pupae per jar
1st	8	12
2nd	2	80
3rd	2	150
4th	3	350

From the above it is apparent that a certain degree of resistance can be acquired to Diazinon by maggots of the laboratory strain of houseflies since by the fourth generation practically all the maggots pupate, overcoming the toxic affects of Diazinon in a concentration of 1 part to 2 million parts of breeding medium.

As indicated by Table II, a considerable proportion of maggots remains susceptible to the toxic effect of Diazinon at a concentration of 1 part to 1 million parts of breeding medium, even after 20 generations of inbreeding and selection. Nor does the percentage of susceptible maggots decrease significantly after the tenth generation.

Only a small number of flies emerged from the breeding medium containing 1 part Diazinon to 500,000 parts medium and these died before laying eggs,

TABLE II

Breeding response of 21 consecutive generations of flies in a breeding medium containing 1 part (active) Diazinon per 1 million parts medium.

Generation	No. of breeding jars	Average No. of pupae per jar
1st	2	21
2nd	7	35
3rd	4	90
4th	5	175
5th	4	180
6th	6	172
7th	4	155
8th	3	149
9th	6	220
10th	7	257
11th	6	250
12th	9	232
13th	9	232
14th	10	242
15th	5	249
16th	15	254
17th	6	265
18th	6	258
19th	12	213
20th	8	215
21st	9	218

thereby eliminating the possibility, up to this point, as selecting flies with maggots resistant to this concentration of Diazinon.

FIELD TESTS

Diazinon was tested as a fly larvicide in manure during September, 1954 at a communal agricultural settlement, Dafne. At the same time parallel control observations were conducted at Dan, a similar settlement, one-and-a-half kilometers to the north of Dafne.

TABLE III

Breeding response of 5 consecutive generations of flies in a breeding medium containing 1 part (active) Diazinon per 500.000 parts medium.

Eggs from Flies of previous series: Generation	No. of breeding jars	Average No. of pupae per jar
14th	12	15
15th	5	4
16th	9	16
17th	9	36
18th	2	46

Each of these settlements keeps approximately 100 head of cattle, and in both cow manure is an important site of fly breeding. The manure is handled in an identical manner in both settlements. Approximately 6 cubic meters are removed daily from two dairy barns and distributed in a layer 25-30 cms thick over the manure pile. Each layer of manure is covered by a layer of straw of approximately the same thickness. The manure piles are situated 10-30 meters from the barns. In three additional cattle sheds the manure is permitted to accumulate on the floor for weeks or months with fresh litter, mostly straw, being spread over it approximately twce weekly. Horse manure, poultry dung, accumulations of refuse and mud scattered about the settlements comprise other sources of houseflies.

A dusting powder was prepared from Diazinon wettable powder containing 10% active ingredient and fine, dry sand in the proportion of 1 part Diazinon WP to 19 parts sand. Each day, with the exception of Saturday, the manure in the dairy barns was dusted before removal at a rate of approximately 1 gm Diazinon (active substance) to 1 cubic meter of manure. Twice this quantity of the dusting powder was aplied to the surface of the manure in the cattle sheds before each of the bi-weekly applications of fresh litter.

The dairy barn manure of Dafne was treated in the above manner from August 25th to September 25th; the cattle shed manure from September 14th to September 30th. No other antifly measures were applied in the barns of either Daphne, the experimental settlement, or of Dan, the control settlement, during the observation period.

Manure was examined for fly breeding 4 to 5 times per week in the experimental, and once per week in the control settlement. The intensity of fly breeding was estimated by digging to different depths at 10 spots in the ma-

nure pile and on the floor of the cattle sheds. The maggot density occurring at any one these points was recorded in accordance with the following scale:

Density:	nil	- No maggots or dead maggots only
	Sligt	- Not more than 10 maggots seen at any one of the spots.
	Moderate	- More than 10 maggots found.
	Heavy	- Maggots too numerous to be counted.

The density of the adult housefly population in the barns was estimated 4 or 5 times per week in the experimental, and once per week in the control, settlement by fly counting (MER 1953). Fly counts were always taken at the same hour.

A number of flies caught at random in the cow barns were dissected to establish the presence of larval fat body-cells in the coelom. This was done in order to determine the proportion of recently emerged individuals in the barn fly population.

The results of the above observations are summarized in Tables IV and V.

From Tables IV and V it is evident that breeding in Diazinon-treated manure was considerably reduced in comparison with untreated manure in either the same or the control settlement. This reduction, while very conspicuous in the treated dairy-barn manure, was somewhat less evident in the cattle shed manure where fly breeding generally was of a much lower intensity. It is probable too that during the collection and spreading of the dairy-barn manure more effective mixing with Diazinon dust is achieved and the larvicidal effect in correspondingly much stronger in this manure than in cattle shed manure.

As shown in Table VI, there were, at the outset, twice as many flies in the control barns as in the experimental ones. As larval control progressed this ratio changed and one month after the beginning of larval control the experimental barns had only 1/5 the number of flies present in the control barns. Within 2-3 weeks after the cessation of larval control the normal relationship between the numbers of flies in the various barns tended to be re-established. The seasonal decline in the number of flies being in all the barns during the month of October.

A considerable reduction in the percentage of recently emerged individuals is demontrated in the experimental barns during the period September 15-27, i.e. 3-5 weeks after the inception of larval control. During the same period the percentage of newly emerged individuals in the control barns rises. Whithin 2-3 weeks after the cessation of larval control the normal percentage tends to be re-established.

TABLE IV

Fly breeding in dairy barn manure.

Nature of manure examined	Age of manure layer	No. of examinations	Density of fly breeding			
			Heavy	Moderate	Slight	Nil
A. Dafne, experimental.						
Untreated manure August 24-25	24 hours	1	1	—	—	—
	48 »	2	2	—	—	—
	72 »	2	2	—	—	—
Treated manure August 25-September 24	24 hours	19	1	1	3	14
	48 »	22	1	2	7	12
	72 »	21	1	—	5	15
Untreated manure collected on Saturdays, August 25-September 24	24 hours	4	1	1	—	2
	48 »	3	2	1	—	—
	72 »	1	—	—	1	—
Untreated manure August 25-September 29	24 hours	2	2	—	—	—
	48 »	2	2	—	—	—
	72 »	1	1	—	—	—
B. Dan, control.						
Untreated manure August 25-September 29	24 hours	6	6	—	—	—
	48 »	6	6	—	—	—
	72 »	6	6	—	—	—

TABLE V

Fly breeding in cattle shed manure.

Nature of mature examined	No. of examinations	Density of fly breeding			
		Heavy	Moderate	Slight	Nil
A. Dafne, experimental.					
Untreated manure August 25-September 13.	12	—	2	7	2
Treated manure September 14-30	11	—	1	4	6
B. Dan, control.					
Untreated manure August 25-September 30	6	2	—	2	2

TABLE VI

Comparison of adult house fly populations in the barns of Dafne, the experimental, and Dan, the control settlement.

Date of fly counts	No. of flies in barns			Ratio of no. of flies
	Experimental		Control	Experimental : Control
August 8	4316	(4201)*	8620	1:2
September 1	4921	(4931)	8794	1:1.8
» 8	4208	(4077)	10555	1:2.5
» 15	2896	(2168)	7134	1:2.5
» 22	2072	(2051)	10258	1:5
» 29	1853	(1454)	7312	1:4
October 6	1138		4713	1:4
» 17	2032		5660	1:2.8

(*) The average number of flies per count; 4-5 counts per week.

TABLE VII

Percentage of barn fly population composed of recently emerged individuals (flies with larval fat bodies) as established by dissection.

Period	Percentage recently emerged individuals		No. of flies dissected	
	Experimental	Control	Experimental	Control
August 27-September 30	22.0	10.6	200	201
September 15-27	10.4	14.0	527	756
October 15-20	17.0	15.5	200	294

DISCUSSION

Diazinon has been shown to be very effective larvicide when in dustform it was applied mixed with talc in the laboratory and with fine sand in the field. It was further shown that a strain of flies resistant to very low dosages of Diazinon could be selected in the laboratory by inbreeding. However, developing a considerable degree of resistance to Diazinon in flies appears to require selection for many more generations than have been observed up to

the present. It may be reasonably expected, therefore, that if the use of Diazion as a fly larvicide in the field is limited to certain fly-breeding sites and not extended to all of them, the selection of resistant strains may be delayed considerably (BUSVINE 1956).

Selective larval control of this kind in the manure effected a significant reduction of the fly population in the barns. This reduction proved quite sufficient; flies no longer interfered with the regular work in the barns and did not disturb the cattle - as was the case before larval control was initiated.

The tecnique of Diazinon dust application is very simple and the toxicant is removed very soon after it is applied when the manure from the dairy barns is cleaned out and carted away.

ACKNOWLEDGMENT: Thanks are extedend to Messrs. GEIGY A-G., Basel and GREEN BROS, Tel-Aviv for their generosity in providing the Diazinon used in these experiments.

SUMMARY

Diazinon dust was tested as a fly larvicide in a laboratory experiment and a field trial. A low degree of resistance to Diazinon in fly maggots was developed by continuous selection for 21 generations. When applied as a fly larvicide to manure in the proportion of 1 part Diazinon to 1 million parts manure (weight volume) it caused a considerable reduction in fly breeding and subsequent diminution in the density of the fly population in the adjacent barns.

SOMMARIO

Con esperimenti di laboratorio e prove in campo pratico è stata saggiata l'azione del diazinone in polvere verso le larve di mosca. Un basso grado di resistenza al diazinone si è manifestato nelle larve a seguito di una selezione proseguita ininterrottamente per 21 generazioni. L'aggiunta di diazinone come larvicida al concime, nella proporzione di una parte a un milione (peso-volume), ha causato una considerevole riduzione dell'attività riproduttiva delle mosche e la conseguente diminuzione della densità di popolazione delle mosche nei ricoveri adiacenti.

BIBLIOGRAPHY

1) BUSVINE, J. R. *WHO/Mal/142.*

2) CWILICH, R. and MER, G. G. (1954): *Riv. Parass. 15*, 357.

3) MER, G. G. (1953): *Bul. World Health Org.*

4) MER, G. G. (1953): *Proc. Ist. Int. Symp. on the Control of Insect Vectors in Disease, Suppl. Rend. Ist. Sup. Sanità, Roma.*

5) SILVERMAN, G. H. and MER, G. G. (1952): *Riv. Parass. 13*, 123.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVII - N. 4 - Ottobre 1956

THE INFLUENCE OF PROTEIN ADDITION TO THE LARVAL DIET ON OVIPOSITION OF THE HOUSEFLY

K.R.S. ASCHER (*) and Z. H. LEVINSON (*)

Musca domestica L. (KOBAYASHI 1934, DERBENEVA-UKHOVA 1935), *Lucilia sericata* Meig. (HOBSON 1938) and *Phormia regina* Meig. (RASSO and FRAENKEL 1954) are unable to develop their ovaries on a solution of sucrose and have to be supplied with protein in addition to sugar for the production of eggs. On the other hand, it has been claimed by GLASER (1923), that *Musca domestica* L. produced a few eggs, when fed on sugar and water only. Among other flies, autogeny has been described in *Drosophila melanogaster* (BODENSTEIN 1947).

Since many of the reserves which go to form the eggs are la'd down in the larval state, it was deemed of interest to reinvestigate the question whether massive protein addition to the larval food would induce the emerging female to lay eggs even when fed on sugar and water alone.

METHODS AND MATERIALS

For each test one hundred newly emerged larvae of *Musca vicina* Macq. were reared in 100 g of the diet, contained in a 300 ml beaker. The beakers were covered with perforated filter paper and incubated at 35°C until pupation.

The basic larval diet consisted of 50 g of sieved wheat bran and 50 ml of water and was inoculated with a standard bacterial flora (SILVERMAN and SILVERMAN 1953). 0.3 g of Nipagin M was added as a fungistatic agent.

The following materials were used alone or in combinations, as additions to the basic larval diet:

(*) *Medical Research Laboratories, Medical Corps, Israel Defence Forces, Israel.*

Addition	*Source*
Casein, soluble pure	Fisher Scientific Co., U.S.A.
Bacto-Peptone	Difco Laboratories, Detroit, U.S.A.
Lactalbumine	Nutritional Biochemicals Co., Cleveland, U.S.A.
Dried *E. coli*	by courtesy of Dr R. S. Roberts, Evans Biological Institute, Runcorn, U. K. (protein content - 75%).
Bacto-Yeast Extract dehydrated.	Difco Laboratories, Detroit, U.S.A.
Testosterone propionate U.S.P.	« Assia » Pharmaceutical Works, Petach Tikva, Israel.

Egg white, fresh, protein content approximately 12%.
Fly eggs, ground, protein content approximately 15.6%
Baker's Yeast, fresh.

The amounts of substances added to each diet are indicated in Table 1.

The pupae were collected by flotation, washed thoroughly and inspected

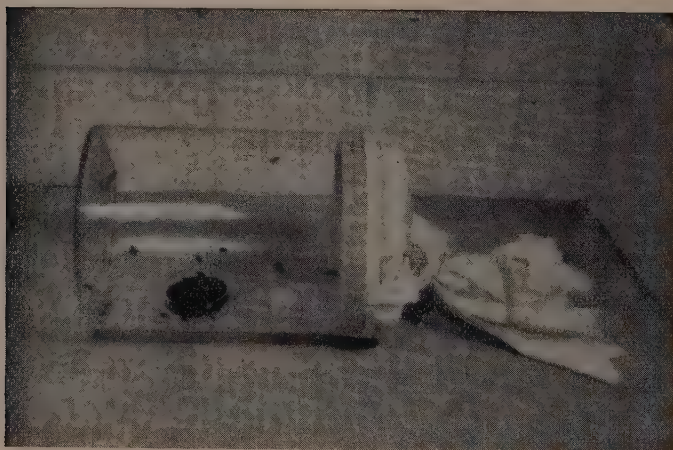


Fig. 1

individually in order to insure that no particles of the media adhered to them. They were then placed for emergence in darkened Erlenmeyer flasks, connected by means of freshly laundered cotton sleeves to clean 2 *l* glass cylinders. These

« cages » (Fig.1) had the advantage, that their two parts could be cleaned easily and then assembled. The sleeves were attached to the cylinders with adhesive tape. After a sufficient number of flies had emerged, they were immobilized by CO_2 and 15 to 20 flies of each sex were used per experiment.

The adults were supplied with cube sugar, and water soaked into a pad consisting of cotton wool sewn into a pouch of black cloth. The pad also served as convenient oviposition site, facilitating the observation of eggs. The cylinders were inspected twice daily at approximately the same time for oviposition and mortality. Eggs were counted by a tally hand counter with the help of a grid, which was drawn on a black background. The dead flies were removed to prevent the survivors from feeding on them. and their sex was recorded. The cylinders were continuously illuminated.

As control, flies were fed from the second to the fourth day of their life on sugar and milk (20% milk powder in water, absorbed on cotton wool) and subsequently on sugar and water. In order to estimate possible sources of error, two day old flies (50 ♀♀ and 50 ♂♂) sacrificed by decapitation (exp. 12a) or by chilling at −20°C (exp. 12b) were offered to experimental flies in addition to sugar and water. It should be emphasized, that the flies used as food suplement were given only sugar and water prior to their being sacrificed.

Results

Larval growth was normal and pupation complete within an average of five days on all experimental diets. The life span of the adults of both sexes varied to a considerable extent among different experiments; it generally decreased with rise of temperature.

Table 1 indicates that flies reared on the basic diet (wheat bran) do not lay eggs when fed sugar and water only (exp. 1a-d). By supplementing the adult diet with milk for one day an average of 2.8 eggs per female per day was obtained. When milk was given for two days, average layings of 4.1, 7.5 and 3.4 eggs per female per day were observed in three different experiments (exp. 2a-d). When killed flies were offered, considerable numbers of eggs were found (exp. 12a, b). Since feeding on dead flies thus constituted an importat source of nutrients, it was essential to remove them from the cages as frequently as possible.

Addition of casein, peptone or lactalbumine at a concentration of 2.5% to the larval diet did not bring about oviposition (exp. 3a-c, 4a,b, 5a). Further experiments in which 5% and 10% of casein was added, confirmed these findings. As experiments 7a, 8a, b and 6a, b indicate, egg white, ground fly eggs and dried *E. coli* also gave negative results. Also the additions of baker's yeast, yeast extract or the « protein sparing agent » testosterone propionate to the casein did not result in egg production (exp. 9a, 10a, 11a).

In some cases, in which females of an age of approximately 10-16 days

TABLE 1

Expt. No.	Addition to larval diet	Addition to adult diet	No. of flies used ♀	No. of flies used ♂	Mean temperature during adult life °C.	Longevity, days ♀ mean	Longevity, days ♀ r.	Longevity, days ♂ mean	Longevity, days ♂ extr.	No. of eggs laid Total	No. of eggs laid avg./♀	No. of eggs laid avg./♀ per day
1a	none	none	18	20	24.0°	28.0	50	27.1	44	0	—	—
1b	»	»	16	13	25.0°	24.0	38	27.7	44	3[a]	—	—
1c	»	»	18	15	26.0°	17.1	37	22.0	30	0	—	—
1d	»	»	19	20	28.0°	15.4	23	19.3	46	0	—	—
2a	»	milk, 2 days	18	20	24.0°	33.3	51	31.4	47	2502	139	4.1
2b	»	» 2 »	20	19	26.0°	20.7	48	25.2	49	3089	154.5	7.5
2c	»	» 1 day	9	9	26.0°	26.3	43	25.4	34	664	73.7	2.8
2d	»	2 days	19	20	28.0°	18.6	29	20.0	37	1197	63.0	3.4
3a	Casein 2.5 %	none	18	19	25.0°	21.6	26	31.8	46	0	—	—
3b	» 2.5 %	»	19	18	26.0°	22.7	34	24.3	34	0	—	—
3c	» 2.5 %	»	19	20	28.0°	13.7	29	19.2	40	0	—	—
4a	Peptone 2.5 %	»	19	17	25.0°	28.1	38	28.5	42	0	—	—
4b	» 2.5 %	»	16	19	26.0°	16.9	25	26.1	48	0	—	—
5a	Lactalbumin 2.5 %	»	20	18	26.0°	23.0	41	25.1	47	0	—	—
6a	Dried *E. coli* 2.5 %	»	18	16	25.0°	25.5	39	30.2	45	0	—	—
6b	» » » 2.5 %	»	20	18	26.0°	18.4	23	25.6	41	0	—	—
7a	Egg white 25.0 %[b]	»	16	18	26.0°	17.3	23	24.9	36	10[a]	—	—
8a	Fly eggs ground 20.0 %[c]	»	20	21	26.0°	15.3	26	24.0	45	0	—	—
b8	» » » 20.0 %[c]	»	17	11	26.0°	15.5	28	23.6	31	46[a]	—	—
9a	Casein 2.5 % + Baker's Yeast 1.0 %	»	16	17	28.0°	18.3	28	24.8	44	95[a]	—	—
10a	Casein 2.5 % + Yeast extr. 1.0 %	»	19	19	28.0°	14.0	32	16.4	27	0	—	—
11a	Casein 2.5 % + Testosterone pr. 0.5 %	»	20	20	28.0°	14.5	23	21.0	36	0	—	—
12a	none	decapitated flies	20	19	24.0°	27.1	45	31.2	49	246	12.3	0.45
12b	»	flies killed by cold	20	19	24.0°	23.3	45	27.2	49	453	22.6	0.97

a) artefact due to feeding on dedad flies (see discussion) — *b*) corresponding to 2.5% protein — *c*) corresponding to 3% protein.

a) artefact due to feeding on dedad flies (see discussion) *b*) corresponding to 2.5% protein *c*) corresponding to 3% protein.

(exp. 1b, 7a, 8b, 9a) had laid a number of eggs, it was proved that the females had fed on dead flies.

Discussion

The present study shows that enrichment of the larval diet by various proteins is insufficient for egg formation in the adult. This is in accordance with the conclusion of RASSO and FRAENKEL (1954) that « muscoid adults must be supplied with protein and sugar for the production of viable eggs ». It is therefore reasonable to explain the contradictory observations made by GLASER (1923) and one of us (LEVINSON 1955) as being due to the fact that the females had fed on dead flies, the protein of which is utilizable for egg production. It has been observed that bacterial decomposition of dead flies, which took place rapidly at summer time. caused a significantly increased oviposition. Even in experiments with single pairs it may be impossible to exlude entirely feeding on dead individuals, since the male is liable to die before the female.

Dried *E. coli* contains a protein of higher nutritional value than animal proteins (ROBERTS 1954), and fly eggs contain the proteins (approx. 15.6% of live weight) (1) necessary for embryonal development of the housefly. However, we found both to be inactive. Also testosterone propionate which exerts a considerable retention of nitrogen in mammals giving rise to protein synthesis *de novo* (KOCHAKIAN 1946, EVERSE 1951), did not aid egg formation. It may be assumed, therefore, that in addition to the presence of protein reserves, other factors are involved in the development of the eggs. In this respect it should be recalled that hormonal regulation plays an important rôle in the ovarian development of *Culex pipiens molestus* Forsk. in addition to the accumulation of food reserves (CLEMENTS 1956).

Since in the present experiments milk was offered to adults in the controls for two (or one) days only, the number of eggs obtained was much smaller than in the work of FELDMAN-MUHSAM (1944) and GREENBERG (1955), who fed milk during the entire life time of the adults. The mean longevity of the control flies on milk was in agreement with that recorded by the latter authors.

ACKNOWLEDGEMENT - Thanks are due to Miss E. DECALO and. Mr. A. BEN-SHMUEL for technical assistance.

SUMMARY

The effect of protein enrichment of the larval diet of *Musca vicina* Macq. on oviposition and longevity of adults, fed sugar and water only, has been investigated. No oviposition was observed. It is concluded that the protein reserves laid down in the larval state cannot be mobilized for egg formation. The fact that adults feed on dead flies may lead to serious errors in the study of oviposition.

---

(1) S. COHEN, unpublished data.

RIASSUNTO

E' stato studiato l'effetto dell'arricchimento con proteine della dieta larvale di *Musca vicina* Mcq. sulla ovoposizione e longevità di adulti nutriti soltanto con acqua e zucchero. Non è stata osservata alcuna ovoposizione. Se ne conclude che le riserve proteiche immagazzinate allo stadio larvale non possono essere mobilizzate per la formazione delle uova. Il fatto che gli adulti si nutrono di mosche morte può essere causa di gravi errori nello studio della ovoposizione.

BIBLIOGRAPHY

Bodenstein D. (1947), *J. Exp. Zool. 104*, 101.
Clements A. N. (1956), *J. Exp. Biol. 33*, 211.
Derbeneva-Ukhova V. P. (1935), *Med. Parasit.* 4 394 (Cited by West L. S. « The Housefly », Comstock Publishing. Co., Ithaca, New York 1951, p. 185).
Everse J. W. R. (1951), *Das Hormon 4*, no. 2.
Feldman-Muhsam B. (1944), *Bull. Ent. Res. 35*, 53.
Glaser R. W. (1923), *J. Exp. Zool. 38*, 383
Greenberg B. (1955), *J. Econ. Ent. 48*, 654.
Hobson R. P. (1938), *Ann. Appl. Biol. 25*, 573.
Kobayashi H. (1934), *Keijo J. Med. 5*, 36 (Cited by West L. S. « The Housefly », Comstock Publishing Co., Ithaca, New York, 1951, p. 185).
Kochakian C. D. (1946), *Vitamins and Hormones 4*, 255.
Levinson Z. H. (1955), *Riv. Parassit. 16*, 120.
Rasso S. C. and Fraenkel G. (1954), *Ann. Ent. Soc. Am. 47*, 636.
Roberts R. S. (1954), *Brit. J. Nutrit. 8*, 353.
Silverman P. H. and Silverman L. (1953), *Riv. Parassit. 14*, 89.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVII - N. 4 - Ottobre 1956

RIVISTE SINTETICHE E CRITICHE

RICERCHE GENETICHE SULLA RESISTENZA DEGLI INSETTI ALLA AZIONE DELLE SOSTANZE TOSSICHE

R. MILANI (*)

SOMMARIO

PREMESSA

Gli insettici ad azione residua hanno permesso di sviluppare la lotta contro gli insetti vettori di malattie in grandi campagne di eradicazione, ed hanno consentito

(*) *Istituto di Zoologia « L. Spallanzani », Pavia* (direttore: Prof. C. Jucci).

successi immediati dei quali il bilancio della lotta antimalarica in Italia [CENTRO DOCUM. PRESIDENZA CONS. MINISTRI REP. ITAL., Nov. 1952] consente una valutazione orientativa. Le cifre che nella tabella 1 lo compendiano, non rappresentano che una piccolissima parte del successo conseguito e dell'onere sostenuto dall'uomo nella lotta contro insetti con i quali è in competizione per l'occupazione di particolari habitat: in 37 Paesi collegati con l'O.M.S. le sole campagne antimalariche svolte in uno degli anni 1948-49-50 hanno protetto 67.200.000 persone, di cui 4.000.000 appartengono all'Italia; queste campagne hanno portato in qualche regione alla scomparsa e in altre a riduzione estrema della malaria [PAMPANA, 1951].

TAB. 1 — *Bilancio di un piano quinquennale di eradicazione degli anofeli attuato in Italia* (1947-51).

	Prima della lotta Anno 1945	Dopo l' eradicazione degli anofeli Anno 1951
Casi di malaria	411.602	451
Casi primitivi	49.588	20
Decessi per malaria	386	—

Costo del piano quinquennale negli anni 1947-51: L. 5.707.804.280.

Le campagne di eradicazione tuttavia, colpendo grandi popolazioni di insetti in regioni estese hanno creato condizioni favorevoli all'affermarsi di razze capaci di tollerare dosi di insetticida superiori a quelle impiegate nella lotta. Il colpire popolazioni grandi ha favorito l'isolamento di (rari) individui particolarmente dotati e quindi ha permesso alla specie di sfruttare l'eterogeneità genetica naturale e di sopravvivere; inoltre il proteggere regioni estese ha aperto a una colonizzazione senza competizione regioni precluse al resto della specie, aggiungendo all'isolamento ecologico determinato dai mezzi di lotta, l'isolamento geografico, determinato dalla estensione delle regioni protette. Episodi epidemici di malaria a Giava e notevole aumento dell'indice parassitario nella Arabia Saudita in zone dove comparve DDT-resistenza degli anofeli [PAMPANA, 1956] testimoniano il pericolo immanente nella comparsa di razze ad elevata tolleranza. Una delle conseguenze economiche della comparsa della resistenza fu un notevole aumento del costo pro-capite delle campagne, che richiedono nuovi mezzi di lotta. E' difficile avere stime globali dell'aggravio economico determinato nel mondo della comparsa della resistenza; nella provincia di Latina nel 1953 il costo pro-capite della lotta contro le mosche fu di L. 426 con il Diazinone e di L. 512 con il Malation (MOSNA e ALESSANDRINI, 1954); con il Chlordane avrebbe potuto essere di L. 363. Nelle zone malariche nelle quali si sono diffuse mosche resistenti, l'inefficacia dei mezzi di lotta contro queste ultime ingenera nelle popolazioni da proteggere scetticismo e diffidenza verso i mezzi di lotta usati, e può interferire quindi con lo svolgimento della lotta antianofelica [D'ALESSANDRO et al., 1948; SIMMONS, 1954]. Il problema della comparsa e della diffusione di razze resistenti, introdotto con elementi economici e sanitari per additarne i riflessi sociali, è per il biologo un problema di natura ecologica e genetica: di natura ecologica perchè la comparsa di razze resistenti implica possibilità di superare specifiche barriere ambientali e quindi di occupare habitat interdetti al resto della specie a causa di fattori analizzabili qualitativamente e quantitativamente; di natura genetica perchè gli adattamenti necessari per il superamento delle nuove barriere sono adattamenti secondari, che possono essere raggiunti dalle popolazioni di insetti soltanto attraverso complesse modificazioni della propria struttura genetica. Il patrimo-

nio genetico delle nuove popolazioni dovrà plasmarsi sulla indispensabile presenza di geni prima non necessari e mantenersi con essa armonizzato. A 10 anni di distanza della prima comparsa della resistenza tra gli insetti di interesse sanitario (WIESMANN, 1947], sembra opportuno tentare di coordinare le conoscenze acquisite sugli aspetti genetici di questo fenomeno.

RICONOSCIMENTO DEL CARATTERE

Ogni ricerca sulla ereditarietà presuppone il riconoscimento di caratteri descrivibili o misurabili che differenziano individui tra loro incrociabili. I risultati di una ricerca saranno tanto più chiari e attendibili quanto maggiori saranno state le possibilità di riconoscere sia le differenze fenotipiche degli individui sia la corrispondenza fra fenotipi e genotipi. Nelle ricerche di natura tossicologica motivi teoretici e motivi tecnici impediscono spesso di individuare per ogni animale in esperimento il livello di tolleranza, o l'ambito entro cui questo ultimo può variare. E' necessario quindi ricorrere a saggi basati sulle risposte di gruppi di individui. Quando interessa separare una popolazione in due sole classi di individui, o perchè sono marcatamente diverse o perchè una di esse supera un particolare livello di tolleranza, è possibile usare una dose sola opportunamente scelta (dose discriminante); la popolazione è così divisa in due frazioni formate ognuna dagli individui che soccombono o che tollerano detta dose. Tuttavia questo non è il mezzo di elezione per i dosaggi biologici che mirano ad accertare le differenze tra le risposte individuali osservabili nella popolazione attraverso il confronto delle risposte di vari campioni a dosi diverse. Questo metodo è idoneo allo studio di popolazioni fenotipicamente omogenee per le quali esiste sempre una legge costante che lega le risposte alle dosi; è molto comune che tale legge determini una corrispondenza lineare tra le risposte espresse in probit (funzioni delle frequenze percentuali cumulate) e i logaritmi delle dosi. Questa linearità facilita i confronti e consente di misurare il valore medio dei campioni e la dispersione delle tolleranze individuali. Questo metodo di analisi comporta però due trasformazioni matematiche dei dati sperimentali, trasformazioni che sono particolarmente drastiche per i valori estremi della distribuzione.

Nelle ricerche genetiche sulla resistenza agli insetticidi sono state usate molte tecniche di somministrazione e di dosaggio, che possono essere ricondotte ai due metodi di misura sopradescritti (dose discriminante e dosi scalari). Il metodo delle dosi scalari è stato realizzato in due modi: o variando le concentrazioni del tossico (per individui o per unità di superficie di contatto) o variando i tempi di esposizione. In qualche caso sono state usate due dosi, ma le discussioni sono riferite indipendentemente ad ognuna di esse; questa modalità è un affinamento del primo metodo.

Le indagini basate sull'uso di dosi scalari, permettono invece una valutazione quantitativa dei livelli di tolleranza presenti nelle popolazioni in esame: il loro uso in ricerche genetiche presuppone l'esistenza di genotipi capaci di produrre nelle distribuzioni discontinuità di entità tale da non poter essere confuse con variazioni casuali nonostante l'impiego di trasformazioni normalizzanti che di solito viene metodologicamente introdotto in questo tipo di saggio tossicologico.

Gli insetti e gli insetticidi per i quali furono condotte analisi sui meccanismi genetici che controllano la resistenza, sono riepilogati nella tab. 2.

Le ricerche sulla resistenza della mosca hanno indotto a distinguere in questo organismo due tipi di risposta al DDT. Esistono infatti stipiti di mosche in cui il DDT determina, come nei ceppi sensibili, sintomatologia d'intossicazione precoce con caduta in supinazione, alla quale dopo qualche ora (o molte ore) succede un progressivo miglioramento che porta a completo ristabilimento degli individui intossicati. Questi ceppi dunque risultano sensibili se l'abbattimento viene assunto come prova di intossicazione; appaiono tuttavia resistenti se l'intossicazione è accertata in base al sopravvenire della morte. Le mosche dei ceppi resistenti più comunemente noti appaiono resistenti sia che si osservi il comparire della sintomatologia neuro-muscolare sia che si osservi l'esito della intossicazione.

La possibilità di distinguere resistenza all'abbattimento e resistenza alla azione letale [BRUCE et al., 1950; HESS, 1952; PAL et al. 1953], l'accertamento di differenze biochimiche tra ceppi resistenti dei due tipi [BUSVINE, 1951; 1953a; 1953b] e le differenze delle deduzioni genetiche basate sullo studio delle due predette manifestazioni di resistenza [BUSVINE, 1953b; HARRISON C. M. 1952a] indussero a ritenere [HARRISON C. M. 1953, 1954] che la resistenza al contatto tarsale si erediti con meccanismi diversi da quelli con cui si trasmette la capacità di sopravvivere a dosi somministrate con applicazione topica. La distinzione tra abbattimento ed esito pare necessaria soltanto per *M. domestica* e soltanto per la intossicazione con DDT.

L'EREDITARIETA' DELLA RESISTENZA

I ceppi resistenti usati per le ricerche sulla ereditarietà della resistenza provengono in qualche caso da popolazioni sensibili di laboratorio sottoposte a selezione sperimentale; in altri casi sono ceppi derivati da popolazioni raccolte in natura già resistenti e ulteriormente selezionati in laboratorio; in casi più rari si tratta di ceppi di laboratorio, che pur non avendo mai subìto procedimenti sperimentali di selezione, sono risultati resistenti in occasione di accertamenti tossicologici. Una parte delle informazioni sulla trasmissione ereditaria della resistenza sono enunciate in forma sommaria come corollario ad esperimenti di selezione.

Meccanismi genetici diversi furono riconosciuti nella trasmissione ereditaria della capacità di tollerare dosi particolarmente elevate di uno o più insetticidi. Il carattere studiato (non necessariamente uguale nei vari casi) fu interpretato come geneticamente complesso, come monofattoriale, e come carattere citoplasmatico controllato da fattori cromosomici.

IPOTESI DI MULTIFATTORIALITA'

Esami con dosi crescenti. L'ipotesi che la resistenza delle mosche al DDT e al metossicloro sia un carattere multifattoriale fu proposta da BRUCE e DECKER [1950] in base ai risultati di incroci e di esperimenti di selezione: gli incroci diedero ibridi la cui tolleranza ad applicazioni topiche di DDT è espressa in F_1, F_2, F_{15}, da rette di regressione (probit/log. dosi) non significativamente diverse tra loro e intermedie a quelle dei ceppi parentali; gli esperimenti di selezione avevano dimostrato che quando si parte da ceppi sensibili, l'aumento di tolleranza inizia soltanto dopo parecchie generazioni. Questa ipotesi è basata sulla osservazione della mortalità; con essa non si accordano i risultati di ricerche basate sulla osservazione dell'abbattimento [HARRISON, C. M. 1951], perciò HARRISON C. M. [1953, 1954] verificò sperimentalmente se la capacità di sopravvivere ad applicazioni topiche di DDT sia geneticamente diversa dalla resistenza alla paralisi: con incroci opportuni ottenne in F_1 progenie che, saggiate con applicazioni topiche di dosi crescenti risultarono omogenee e con resistenza approssimativamente intermedia a quella dei ceppi parentali, mentre le F_2 furono considerevolmente più eterogenee, con comparsa di individui di tolleranza uguale a quella dei due ceppi usati nell'incrocio. Il ceppo resistente usato deriva (remotamente) da un ceppo selvatico italiano.

Gli esperimenti di BRUCE e DECKER e C. M. HARRISON pur essendo stati eseguiti con tecniche simili non diedero dunque risultati uguali. Nel primo citato non vennero accertate differenze tra la F_1 e le generazioni successive; invece nel secondo la F_2 fu assai più eterogenea della F_1. Le popolazioni F_1 sono nei due casi intermedie, ma differiscono per essere nel primo caso assai più eterogenee, nel secondo più omogenee dei ceppi incrociati. Negli incroci di BRUCE e DECKER le F_1 sono intermedie (*intermedie LD 50*) per la comparsa di individui che estendono la distribuzione della tolleranza da livelli osservabili tra i plusvarianti del ceppo sensibile a quasi tutto l'ambito di variabilità del ceppo resistente. Questa eterogeneità e il valore medio della distribuzione si mantengono nelle generazioni successive, fino alla F_{15}. Gli elementi su cui è basata la ipotesi

di multifattorialità sono: tolleranza intermedia della F_1 nei due casi, uguaglianza della distribuzione dei dati in tutte le generazioni successive all'incrocio nel caso di BRUCE e DECKER e aumento della dispersione passando dalla F_1 alla F_2 nel caso di HARRISON. Inoltre BRUCE e DEKER ritengono che il ristagno iniziale della risposta a processi selettivi (che sarà esaminato in seguito) convalidi l'ipotesi di multifattorialità e sia dovuto alla necessità di portare gli elementi costitutivi dei complessi poligenici che presumono responsabili della resistenza ad una densità sufficiente per permetterne l'accumulo

I fatti osservati da BRUCE e DECKER sono tuttavia anche compatibili [MILANI, 1954a] con l'ipotesi che si tratti di un carattere monofattoriale di cui un allele incompletamente recessivo abbia frequenze basse in un ceppo (solo individui eterozigoti) e molto elevate nell'altro (molti o quasi tutti omozigoti).

Questa ipotesi, ammettendo la comparsa di tre combinazioni geniche nella F_1, giustifica la dispersione dei dati in questa generazione ed è compatibile con la permanenza di distribuzioni con caratteristiche uguali nelle generazioni successive.

Occorre notare che una eterogeneità maggiore nella F_1 che nei ceppi parentali non seguita da aumento della dispersione dei dati nella F_2, come non corrisponde ai modelli scolastici della ereditarietà monofattoriale, non corrisponde neppure a quelli della ereditarietà poligenica. Nel caso descritto da C. M. HARRISON la comparsa nella seconda generazione di individui con caratteristiche simili a quelle dei due ceppi parentali suggerisce che i meccanismi genetici operanti siano molto semplici. Come si vedrà più diffusamente in seguito i dati pubblicati non consentono di escludere la monofattorialità, poichè, in corrispondenza delle dosi minime che provocano mortalità totale nel ceppo sensibile e nella F_1 la mortalità nella F_2 fu 28% e 78% rispettivamente; nella ipotesi di monofattorialità, essendo la F_1 intermedia, a dette dosi i valori attesi sarebbero stati 25 e 75% rispettivamente [MILANI, 1956].

BUSVINE e KHAN [1955] studiarono l'ereditarietà della resistenza al BHC usando un ceppo resistente, originatosi in natura e ulteriormente selezionato in laboratorio, avente una tolleranza media circa 100 volte maggiore di quella di un ceppo sensibile di laboratorio. La colonia resistente conteneva individui parzialmente sensibili; tuttavia negli incroci fatti con coppie singole non furono osservate differenze particolarmente notevoli tra le colture. Gli incroci reciproci hanno dato in F_1 e in F_2 risultati uguali e non furono osservate differenze tra i sessi. Le F_1 furono intermedie e molto uniformi; nella F_2 la resistenza fu ancora intermedia, ma ad un livello più basso che nella F_1 per la presenza di individui completamente sensibili non controbilanciata da presenza di individui altamente resistenti. Gli autori ritengono che le caratteristiche delle F_1 e l'aumento della varianza delle F_2 denotino ereditarietà multifattoriale.

Le ricerche condotte su *Drosophila melanogaster* che condussero a formulare ipotesi di multifattorialità sono nella maggior parte dei casi corollari di esperimenti di selezione. Gli insetticidi usati furono DDT [BOCHNING, 1952 - 1954; CROW 1952 - 1954; KING 1953 - 1955] e gammaesano [DRESDEN e OPPENOORTH, 1951 - 1953; OPPENOORTH e DRESDEN, 1953].

CROW [1952, 1954] osserva che l'esposizione per contatto tarsale a serie di dosi crescenti determina nei ceppi P, F_1 e F_2 curve di caduta che cambiano notevolmente forma se si variano i tempi di esposizione; nel complesso però le F_1 e le F_2 sono assai più vicine al genitore resistente; la F_2 però è più vicina alla media tra i due ceppi parentali: questo suggerisce pure (ma non lo prova) che il carattere sia poligenico; incroci con ceppi a cromosomi marcati dimostrarono che i due autosomi maggiori sono i portatori dei fattori per la resistenza e che esiste interazione negativa tra i fattori portati da ognuno di essi poichè il loro effetto cumulato è inferiore alla somma degli effetti singoli; il lento progredire della selezione e i dati sulla ereditarietà suggeriscono ma non provano che si tratti di carattere multifattoriale poligenico.

Anche gli esperimenti di selezione effettuati da KING [1953 - 1954] determinarono aumenti di tolleranza graduali; la risposta alla selezione fu migliore quando la pressione selettiva fu moderata (circa 50%); incroci di una linea selezionata con il ceppo di origine diedero F_1 intermedia e F_2 simile al ceppo di origine, mentre gli incroci

tra le due linee resistenti d'origine comune e selezionate in parallelo hanno dato F_1 di tolleranza uguale a quella dei ceppi parentali e F_2 con tolleranza assai più bassa; nei due casi la varianza aumentò nella F_2. Questi fatti secondo KING indicano l'esistenza di sistemi multifattoriali o poligenici; inoltre i fattori in gioco debbono almeno in parte essere dominanti, ma la dominanza non è semplicemente additiva.

A conclusioni simili giunse anche BOCHNING [1952, 1954] in seguito ad esperimenti di selezione (*Drosophila* con DDT) e prove d'incrocio: le prove d'incrocio furono effettuate ottenendo le F_1 e tutti i possibili reincroci con i ceppi parentali; i saggi furono effettuati esponendo per tempi crescenti i campioni al contatto tarsale con una dose fissa; le F ottenute da incroci reciproci furono tra loro uguali e intermedie ai due ceppi parentali; i reincroci diedero popolazioni con caratteristiche intermedie fra la F_1 e il ceppo P con cui il reincrocio fu effettuato: questi fatti e la gradualità dell'aumento della resistenza denotano, secondo l'autrice, polimeria.

OPPENOORTH e DREEDEN [1953] e DRESDEN e OPPENOORTH [1951, 1953] osservarono che la resistenza di un ceppo di *Drosophila* selezionato con il BHC fu incompletamente dominante, e che il corso di sviluppo della resistenza fu assai simile a quello dello sviluppo di proprietà poligeniche. Le dosi medie letali tra i due ceppi differiscono di poco (la LD 50 fu circa 4 volte maggiore nel ceppo selezionato) e le distribuzioni si sovrappongono notevolmente. Nella determinazione della retta di regressione furono tralasciati una parte dei dati che ascende al 50% di essi (50% più sensibili) negli esperimenti di incrocio. Inoltre l'uso di ceppi e cromosomi marcati [DRESDEN e OPPENOORTH, 1953] permise di riconoscere che nessuno dei singoli cromosomi del ceppo resistente poteva rispondere di tutta la resistenza; tuttavia fu riconosciuto un marcato effetto del II° Cr. A risultati simili è giunto OSHIMA [1954a, 1954b, 1955], usando una tecnica che permette di seguire in popolazioni sperimentali interi cromosomi; questo autore trovò che in un ceppo di *Drosophila melanogaster* di origine selvatica la DDT-resistenza è determinata da fattori localizzati sui due cromosomi maggiori; isolatamente l'azione del II° Cr. è più intensa e meno uniforme; l'autore ritiene che in questa specie la DDT-resistenza abbia controllo poligenico, rinforzato da un oligogene dominante del II° Cr. e da un modificatore del III°.

Gli esperimenti sulle drosofile ora ricordati hanno molti elementi comuni. Il più importante forse è che, con una sola eccezione, i ceppi resistenti furono ottenuti in laboratorio; in tutti i casi i processi di selezione, pur essendo stati eseguiti con tecniche diverse, hanno portato sempre con molta lentezza a ceppi aventi una tolleranza media superiore, ma non di molto (5-8-10 volte) a quella dei ceppi d'origine. Ceppi selezionati e ceppi di origine o di controllo hanno curve di mortalità (o di sopravvivenza) in funzioni delle dosi in parte trasvarianti: questo è accertabile sui dati che corredano i lavori. Nelle F_1 si verifica dominanza completa (KING, OSHIMA) o incompleta (CROW, BOCHNING, OPPENOORTH e DRESDEN) della resistenza. Gli individui di ogni ceppo, selezionato o non selezionato, possono avere livelli di tolleranza profondamente diversi: le differenze individuali però ricevono un risalto diverso a seconda dei dosaggi impiegati: questo risulta con particolare evidenza dalle ricerche di CROW [1954].

Non risulta se la trasvarianza tra le curve di distribuzione della tolleranza nei ceppi con diversa tolleranza media debba essere attribuita a individui con fenotipi uguali ma geneticamente diversi oppure alla possibilità di comparsa di individui di costituzione genetica simile nei due ceppi. Queste due possibilità introducono complicazioni di analisi diverse, che non risultano affrontate nelle ricerche citate.

I risultati delle prove tossicologiche compiute negli esperimenti di incrocio eseguiti da CROW [1954], sono rappresentati in grafici in cui le percentuali di mortalità sono espresse in funzione delle dosi; grafici separati rappresentano le osservazioni compiute con tempi di esposizione diversi. Da questi grafici si può rilevare che quando viene raggiunta la mortalità totale nel ceppo resistente, le curve di mortalità di questo ceppo, delle F_1 e delle F_2 tendono a formare dei tavolieri; questo suggerisce che nelle varie popolazioni, una parte degli individui abbia una tolleranza distintamente minore del resto delle popolazioni. Questi individui formano una frazione che com-

prende quasi la totalità degli individui nel ceppo d'origine, mentre è molto piccola nel ceppo selezionato; negli incroci è intermedia, maggiore però nelle F_2 che nelle F_1; alle due dosi meglio discriminanti (12 e 18 ore di contatto) il tavoliere della F_2 è in prossimità del 25% e del 75% rispettivamente.

I dati sulla ereditarietà della resistenza pubblicati da BOCHNING non escludono l'ipotesi che il carattere sia monofattoriale. Infatti, essendo la resistenza semidominante, ci si deve attendere che i reincroci con i due ceppi parentali diano risultati intermedi tra questi e la F_1, sia nel caso di ereditarietà poligenica sia nel caso di ereditarietà monofattoriale.

I risultati di KING certamente denotano una situazione complessa; a questo proposito BARBESGAARD e KEIDING (1955) osservano che i risultati degli incroci non corrispondono ai modelli tipici dei sistemi poligenici in cui la media non varia nel passare dalla F_1 alla F_2; sembrano denotare piuttosto rottura di sistemi genetici integrati.

Le sole prove dirette della multifattorialità sono date dai risultati di incrocio con ceppi marcati effettuati da CROW [1952], da CROW e SMITH [1952] e da DRESDEN e OPPENOORTH [1953].

Esami con una dose discriminante. Le ricerche fin qui ricordate furono effettuate usando il metodo tossicologico delle dosi crescenti. Anche autori che effettuarono i saggi con una sola dose discriminante ritengono che la resistenza sia un carattere geneticamente complesso. LA FACE [1952] studia il comportamento ereditario della DDT-resistenza e della chlordan-resistenza, Trova dominanza della sensibilità e mancanza di segregazioni secondo rapporti mendeliani semplici nelle generazioni successive agli incroci; ritiene perciò che la resistenza sia dovuta a fattori multipli, e sia particolarmente soggetta alla azione di fattori ambientali per l'erraticità dei risultati. D'ALESSANDRO et all. [1953-a, 1953-b, 1954] osservarono la caduta in supinazione (che presumono prova certa di intossicazione mortale) in seguito ad esposizione continua con depositi cristallini. Nelle F_1 trovano dominanza incompleta della sensibilità; ritengono che la resistenza abbia un controllo poligenico perchè nelle F_2 non trovano segregazione in accordo con rapporti mendeliani semplici e perchè sia da coppie di individui sensibili sia da coppie di individui resistenti appartenenti alla F_2 ottengono famiglie contenenti anche individui rispettivamente resistenti o sensibili. Pubblicano soltanto percentuali e grafici [1953-b; 1954]; da questi è possibile rilevare che nella F_2 l'abbattimento ha un decorso discontinuo: rapido entro il periodo in cui si svolge l'abbattimento degli individui F_1 e lentissimo in seguito; una forte riduzione della scala dei tempi nella parte del grafico che rappresenta la seconda fase della caduta attenua la percezione ottica della discontinuità. Queste due fasi chiaramente riconoscibili dell'abbattimento denotano indubbiamente discontinuità nelle proprietà degli individui F_2. Talune contraddizioni nel testo e nei grafici (ad esempio la frazione che cade in supinazione entro 30' risulta nel lavoro più estensivo [1954] del 27% a pag. 89 e del 10% alle pag. 90 e 92), impediscono di sviluppare maggiormente l'analisi di questi dati; tuttavia, se sono esatti i dati esposti a pag. 89, nelle F_2 gli individui caduti in supinazione entro il tempo caratteristico del ceppo sensibile furono 27%, valore assai vicino all'atteso nell'ipotesi di manofattorialità in un caso come questo in cui pare che non vi sia trasvarianza tra le distribuzioni dei livelli di tolleranza individuali del ceppo sensibile e quelli della F_1. La versione a pagg. 90 e 92, è basata sulla osservazione di 97 esemplari F_1. Assai più dimostrativi per l'ipotesi di multifattorialità sarebbero i risultati delle F_3; infatti sia coppie di individui F_2 sensibili sia coppie di individui F_2 resistenti generarono famiglie F_3 formate con individui dei due tipi; gli autori, forse perchè ritenevano che nella mosca la maturità sessuale sia raggiunta a tre giorni dalla schiusura degli adulti [1954, pagina 93], ottennero F_3 da coppie F_2 resistenti isolate dopo i trattamenti fatti in promiscuità. Naturalmente, essendo possibili gli accoppiamenti dopo 8 ore dallo sfarfallamento, ed essendo questi assai intensificati nella fase iniziale della intossicazione presumibilmente per un abbassamento della soglia di eccitabilità simile a quello descritto per il riflesso di sunzione [SMYTH, 1954], non può

stupire che femmine F_2 resistenti (carattere incompletamente recessivo) abbiano generato individui F_3 sensibili; i rapporti di dominanza tra i caratteri sottoposti a saggio genetico sono sufficienti per spiegare la comparsa di individui resistenti nella progenie di coppie sensibili: questo secondo tipo di coppie fu formato con individui schiusi in isolamento e individualmente sottoposti al saggio tossicologico.

Alle ricerche effettuate con una dose discriminante che diedero luogo a interpretazioni di multifattorialità occorre aggiungere quelle di HOUGH [1928, 1929, 1934] su razze di *Carpocapsa pomonella* resistenti all'arseniato di piombo. Gli ibridi di 1a generazione ebbero resistenza intermedia; questa rimase tale nelle generazioni successive; BROWN [1951] interpreta questo come un caso di ereditarietà poligenica.

Da quanto abbiamo finora esposto risulta dunque che l'ipotesi che la resistenza abbia un controllo multifattoriale o poligenico è stata avanzata ripetutamente, in molti casi con riserve, talora in modo esplicito: ma in nessuno dei casi pubblicati, si verificano le modalità di trasmissione caratteristiche dei sistemi poligenici; le ipotesi sono spesso basate, almeno in parte, su elementi di prova indiretti o negativi, come progressivo incremento della resistenza in ceppi sottoposti a selezione e mancanza di rapporti mendeliani tipici negli esperimenti di incrocio. In qualche caso evidenti insufficienze nella sperimentazione inficiano l'attendibilità delle deduzioni. Tuttavia appare assai verosimile che in taluni casi (CROW, KING, OSHIMA, DRESDEN e OPPENOORTH) gli esperimenti di selezione abbiano portato alla formazione di sistemi complessi.

IPOTESI DI MONOFATTORIALITÀ.

La prima ricerca esauriente sulla ereditarietà di un caso di resistenza (DICKSON, 1941) portò ad accertare che il carattere si comportava geneticamente come un dominante incompleto legato al sesso. Il materiale fu fornito dalle razze di *Aonidiella aurantii* resistenti alle fumigazioni di HCN, note già dalle ricerche di QUAYLE [1916 - 1938]. Questo caso di resistenza fu studiato geneticamente con uguali risultati da YUST H. R. et all. [1943]. Le deduzioni genetiche sono basate sul comportamento della F_1, delle F_2 e dei reincroci verso una dose fissa di insetticida. In questo caso il comportamento matroclino dei maschi F fornì una guida sicura alla interpretazione dei dati basati su esperimenti di incrocio convincenti. Nonostante questo precedente, l'ipotesi che un solo gene possa assicurare capacità di sopportare dosi altissime di insetticidi trovò una certa resistenza quando si trattò di interpretare il determinismo genetico della resistenza delle mosche agli insetticidi clorurati. Un indizio di questo lo si ha dalla facilità con cui la mancaza di segregazioni secondo rapporti mendeliani semplici è assunta a prova di polifattorialità. Tuttavia il primo lavoro documentato e espresso in termini genetici esaurienti ed esatti sulla ereditarietà della DDT-resistenza nella mosca, ha dimostrato l'esistenza di un gene incompletamente recessivo, che regola la resistenza (HARRISON, 1951). E' già stato ricordato che il disaccordo tra questi risultati e quelli già citati di BRUCE e DECKER venne attribuito all'avere scelto in un caso l'abbattimento e nell'altro la mortalità come indice di intossicazione (HARRISON, C. M. [1952-a]; BUSVINE [1953-b]). Anche KEIDING (e BARBESGAARD) [1953] osservando l'abbattimento in seguito a trattamenti per contatto tarsale trovano, se non prove certe, almeno forti indizii che le differenze maggiori tra le mosche sensibili e quelle resistenti al DDT siano dovute ad un carattere geneticamente semplice, autosomico, incompletamente recessivo.

I rapporti tra resistenza alla azione abbattente e capacità di sopravvivere furono in parte chiariti da MILANI [1954a, 1955a] che analizzò, in ricerche sulla ereditarietà della resistenza, la mortalità in funzione del tempo di abbattimento. In queste ricerche fu usato un ceppo resistente originato da una femmina fecondata raccolta in natura; questo ceppo fu selezionato soltanto per un mutante delle venature alari (*plexus*) e non fu mai sottoposto in laboratorio ad esperimenti di selezione; tuttavia risultò omogeneo ed altamente resistente al DDT in occasione di un controllo tossicologico effettuato sulla F_{12}. Saggi effettuati con contatto tarsale confermarono che la resistenza all'abbattimento è carattere monofattoriale autosomico incompletamente recessivo; l'omozi-

gosi per questo carattere comporta non soltanto resistenza all'abbattimento ma anche capacità di sopravvivere al trattamento (resistenza *tipo b*); inoltre sia nella F_1 sia nelle $F_{1,1}$ non tutti gli invidui sensibili alla azione abbattente del DDT soccombono, comportandosi come gli individui dei ceppi resistenti soltanto alla azione letale (resistenza di *tipo a*); la frequenza di questi individui fu diversa a seconda dei ceppi sensibili usati negli incroci; in molti casi tutti e soltanto gli individui abbattuti muoiono; perciò anche l'accertamento della mortalità avrebbe permesso di riconoscere la monofattorialità del carattere. In questi esperimenti fu anche accertato che fattori genetici non interessati nel fenomeno della resistenza possono interferire con la segregazione del carattere; furono così individuate una delle cause che possono nascondere la monofattorialità e una delle cause che rendono spesso poco chiari i risultati ottenuti osservando la mortalità. Con esperimenti indipendenti miranti a formare ceppi resistenti contrassegnati da marcatori il presente autore accertò che gli individui resistenti che compaiono nelle F_2 sono omozigoti ed è quindi possibile ottenere da essi con un solo atto selettivo ceppi resistenti omogenei e stabili; talora però fenomeni biologici indipendenti vi si oppongono. La presenza di questo gene fu accertata in ceppi di laboratorio ritenuti sensibili e in popolazioni naturali, sensibili o resistenti (MILANI e FILIPPONI, 1954).

I risultati delle ricerche di BARBESGAARD e KEIDING [1955] sulla ereditarietà della DDT-resistenza sono in completo accordo con queste ora citate nell'accertamento delle modalità del controllo ereditario, nella valutazione dei rapporti di dominanza tra gli alleli, nel riconoscimento di fattori genetici estranei al fenomeno della resistenza ma capaci di disturbare le segregazioni mendeliane, nell'accertamento della complessiva ma non assoluta corrispondenza della mortalità con l'abbattimento.

Anche ricerche di incrocio in cui le prove tossicologiche furono eseguite con accertamento della morte in seguito ad applicazione topica di una dose di DDT opportunamente scelta, permisero di riconoscere l'esistenza di un gene autosomico capace di conferire completa resistenza. MAELZER e KIRK [1953] osservarono che in un ceppo resistente (*Multi-X*) sono presenti due tipi di mosche: *weak* con resistenza debole, e *strong* con resistenza elevata. Le mosche del primo tipo incrociate con mosche sensibili danno F_1 intermedie e F_2 di poco differenti dalla F_1, mentre le mosche del secondo tipo danno segregazioni che suggeriscono dominanza e monofattorialità del carattere (autosomico). Il gene che determina la resistenza del ceppo *Multi-X* è stato isolato da un vecchio ceppo sensibile di laboratorio; LICHTWARD et al. [1955a, 1955b] constatarono che esso è uguale o allele di un gene presente nelle popolazioni naturali dell'Illinois ora DDT-resistenti, e concordano con MAELZER e KIRK nel considerare il gene che conferisce resistenza dominante sul suo allele normale.

La valutazione dei rapporti di dominanza, dunque, è l'unico punto di disaccordo tra i risultati di HARRISON, KEIDING, BARBESGAARD e MILANI da un lato e quelli di MAELZER e KIRK, di LICHTWARD et al., DECKER e BRUCE dall'altro. Gli autori del primo gruppo, che usarono il contatto tarsale, trovarono recessività incompleta, mentre gli altri, che usarono applicazioni topiche, trovarono dominanza.

Occorre notare che i due gruppi di ricerche differiscono anche per altri elementi tecnici, ognuno dei quali può giustificare le differenze di risultati. In primo luogo i ceppi resistenti usati dai primi autori provengono da popolazioni di mosche paleoartiche, mentre negli altri casi i ceppi provengono da popolazioni neoartiche. E' possibile che si tratti nei due casi di geni diversi che possono appartenere allo stesso locus o a loci diversi. Inoltre le dosi usate nelle ricerche riunite nel secondo gruppo hanno efficacia assai minore di quelle usate da KEIDING e BARBESGAARD e da MILANI; da prove comparative di MAELZER e KIRK, risulta che nel loro materiale l'efficacia delle dosi usate per le applicazioni topiche corrisponde a quella del contatto tarsale con 10mgr/sq.ft di DDT. Questa dose è approssimativamente 1/10 di quella usata da MILANI e da KEIDING su carta; tuttavia è uguale a quella usata da HARRISON su vetro. E' possibile rilevare dai dati pubblicati che l'intossicazione degli individui sensibili (sia dei ceppi originari, sia delle popolazioni F_1 e F_2) ebbe un decorso più rapido negli esperimenti di MILANI, meno in quelli di KEIDING e fu molto lento negli esperi-

menti di Maelzer e Kirk. Gli aggettivi « rapido » e « lento » si riferiscono all'inizio dell'intossicazione e all'ambito di tempo necessario perchè tutti gli individui di una stessa categoria siano coinvolti dall'intossicazione. Gli individui eterozigoti hanno certamente proprietà fisiologiche intermedie tra quelle dei ceppi sensibili e quelle dei ceppi resistenti: essi possono apparire più simili agli uni o agli altri a seconda delle severità della intossicazione cui sono sottoposti [Milani, 1954a]. Un esperimento di incrocio del presente autore [1954b] diede individui F_1 la cui tolleranza, misurata con il metodo delle dosi scalari, risultò simile a quella del ceppo resistente: il tempo di contatto praticato in questo esperimento anche alla dose maggiore può ora essere giudicato insufficiente per vulnerare tutti gli eterozigoti.

Da quanto sopra esposto risulta dunque che sia in popolazioni selvatiche sia in vecchie popolazioni di laboratorio paleo-e neo-artiche di mosca domestica è stata accertata l'esistenza di oligogeni capaci di assicurare elevata tolleranza al DDT. All'interno di ognuna di queste due regioni zoogeografiche fu accertato l'allelismo dei geni isolati dai ceppi di laboratorio con quelli delle popolazioni selezionate in natura, mentre non è stato ancora accertato se nei due casi si tratta di alleli o di geni appartenenti a loci diversi. Se si tratta di alleli, è possibile che siano in rapporti di dominanza diversi con gli alleli normali presenti nelle popolazioni originarie; tuttavia non si può escludere che la diversa valutazione della dominanza dipenda dalle condizioni sperimentali.

In *D. melanogaster* è stato possibile riconoscere l'esistenza di oligogeni dominanti o semidominanti che determinano resistenza a numerosi insetticidi. Questi furono localizzati negli autosomi maggiori; uno del II° Cr., in prossimità dei geni *sca* e *vg* [Ogaki e Tsukamoto, 1953 - 1954; Tsukamoto e Ogaki, 1953 - 1954] determina resistenza a DDT, BHC, ed altri insetticidi; alleli o pseudo-alleli di esso sono presenti con frequenze elevate in qualche popolazione naturale o in qualche ceppo di laboratorio che non ebbero mai contatto con il DDT; un altro gene determina resistenza alla nicotina: è incompletamente dominante e giace sul III° Cr., in prossimità del centromero. [Tsukamoto e Ogaki, 1954b; Tsukamoto 1955]. Anche gli autori che propendono per una interpretazione di polifattorialità riconoscono una prevalenza del II° Cr. nel determinare la tolleranza a vari insetticidi in *Dr. melanogaster* [Dresden e Oppenoorth, 1953; Oppenoorth e Dresden, 1953; Oshima 1955] o ammettono l'esistenza di un oligogene su questo cromosoma [Oshima, 1954a]; sul II° Cr. è localizzato anche il fattore (o i fattori) che determinano resistenza all'HCN in un ceppo selezionato da Harrison B. J. [1954]; tuttavia questi sono provatamente distinti da quelli che assicurano la resistenza agli insetticidi clorurati.

Anche in *Drosophila virilis* fu riconosciuta l'esistenza di un gene incompletamente dominante che determina resistenza al DDT; questo gene è localizzato sul V° Cr., considerato omologo del II° di *Drosophila melanogaster* [Oshima, 1953a]; tuttavia anche un altro cromosoma è interessato nella resistenza [Oshima e Hiroyshi, 1955].

Le ricerche che portarono al riconoscimento di oligogeni nel controllo della tolleranza sono nel complesso in buon accordo tra loro e documentate in modo esauriente e soddisfacente.

Metodo tossicologico e inferenze genetiche.

Particolarmente utili per il confronto tra le ricerche che portarono ad interpretare il carattere della resistenza come geneticamente multifattoriale o poligenico e quelle che portarono al riconoscimento di meccanismi genetici semplici, sono quelle eseguite dagli stessi autori con metodi diversi.

E' già stato detto che Harrison C. M. [1952a, 1953, 1954] e Busvine [1953a, 1953b] formularono l'ipotesi che i fattori che determinano capacità di sopravvivere ad applicazioni topiche di insetticidi siano diversi da quelli che determinano resistenza all'abbattimento per contatto tarsale. Questa ipotesi fu sottoposta al vaglio sperimentale da Harrison [1953, 1954] usando un ceppo resistente di origine italiana. Fu riconfermata la monofattorialità della resistenza all'abbattimento per contatto tarsale; saggi

con dosi crescenti permisero di constatare che la F_1 fu omogenea e intermedia; nella F_2 vi fu maggiore eterogeneità, con ricomparsa di individui con livelli di tolleranza uguali a quelli osservabili nei due ceppi parentali; l'esame collettivo dei dati F_2, non rivela chiare segregazioni in rapporti mendeliani, per cui l'autrice conclude che questi risultati indicano eredità multifattoriale; essa precisa: « It would appear that resitance to kill by an applied dose and resistance to paralysis with DDT are inherited in different ways at least in that particular strain ».

Tuttavia alcuni particolari non debbono essere trascurati [MILANI, 1956]. Nella serie di dosi usate da HARRISON [1954], alcune corrispondono a livelli di tolleranza di importanza particolare perchè delimitano gruppi di individui fenotipicamente omogenei e geneticamente ben definiti: queste sono le dosi corrispondenti alle tolleranze massime osservabili nel ceppo omozigote sensibile e negli individui F_2. Tra individui sensibili e individui F_1 non vi è sovrapposizione di livelli di tolleranza. In corrispondenza di queste due dosi le mortalità osservate nella F_2 furono 28 e 78% rispettivamente. Essendo in questi esperimenti il fenotipo eterozigote discriminabile dal fenotipo sensibile, nell'ipotesi di monofattorialità alla prima dose la mortalità attesa sarebbe stata del 25%, valore assai vicino all'osservato. La dose che delimita la tolleranza massima degli eterozigoti, determina nella F_2 una mortalità del 78%, valore assai vicino a 75%, valore atteso qualora il carattere fosse monofattoriale e gli individui eterozigoti non presentassero livelli di tolleranza comuni con i resistenti. Il ceppo resistente è però eterogeneo, e non possiamo avere elementi diretti di prova a questo riguardo; tuttavia possiamo dedurre dalla documentazione grafica e dalle tabelle che nel ceppo resistente la mortalità percentuale registrata in corripondenza della dose che delimita la tolleranza massima degli eterozigoti ha un valore assai vicino alla percentuale di individui di questo ceppo che risultano notevolmente più sensibili del resto della popolazione al saggio per contatto tarsale; i due tipi di saggio tossicologico quindi rivelano una eterogeneità dello stesso ordine di grandezza. Inoltre se si estraggono dal totale gli individui del ceppo resistente presunti eterozigoti e si calcola limitatamente ad essi la correlazione tra dose e mortalità si ottengono, nonostante lo scarso numero di esemplari, risultati sorprendentemente in accordo con quelli osservati nella F_1. Questo indica che la dose risultata meglio discriminante per gli eterozigoti permette di separare dal ceppo resistente una frazione le cui caratteristiche tossicologiche corrispondono a quelle degli individui F_1; la frazione residua, che possiamo presumere formata da individui omozigoti resistenti, ha livelli tossicologici che ritroviamo in circa 1/4 degli individui F_2.

Perciò accanto ad elementi che suggeriscono polifattorialità del carattere, ne esistono molti che rendono assai più attendibile l'ipotesi di monofattorialità, stabilendo quindi un notevole accordo tra le osservazioni sull'abbattimento e quelle sulla mortalità; questi elementi sono :

1) ricomparsa di tutti i fenotipi parentali nella F_2;

2) coincidenza delle frequenze osservate nelle F, con quelle attese nella ipotesi di monofattorialità in classi non arbitrariamente scelte ma specificamente discriminanti per i fenotipi e i genotipi meglio definiti;

3) il grado di eterogeneità del ceppo resistente risulta dello stesso ordine di grandezza saggiando l'abbattimento e saggiando la mortalità; la frazione più sensibile del ceppo resistente eterogeneo risulta con i due metodi di saggio avere proprietà tossicologiche uguali agli eterozigoti della F_1.

Questi fatti si accordano perfettamente con i risultati delle ricerche di MILANI [1954a, 1955a] che dimostrarono che la resistenza all'abbattimento è sempre accompagnata da capacità di sopravvivere alla intossicazione e che in molti casi, sensibilità all'abbattimento ed esito letale dell'intossicazione coincidono (*casi* non indica qui *individui* ma *gruppi di colture simili* oppure *tutti gli individui di uguale sesso in colture simili*).

Intanto le ricerche di MAELZER e KIRK [1953] avevano dimostrato che anche con

applicazioni topiche di una dose costante opportunamente scelta ed esame della mortalità, si ottengono risultati che suggeriscono fortemente che il carattere sia monofattoriale. Coordinando questi risultati MILANI [1954a; 1956] richiamò l'attenzione sul fatto che il disaccordo tra gli autori è certamente dovuto assai più a questioni formali che a differenze oggettive. Nel caso del ceppo esaminato da HARRISON C. M. è evidente che le due tecniche d'esame (contatto tarsale e applicazione topica) non verificano due fenomeni fisiologici e genetici intrinsecamente diversi, ma consentono un accertamento più o meno rigoroso di un solo fenomeno. LICHTWARDT, LUCE, DECKER e BRUCE [1955a] hanno recentemente constatato che il gene individuato da MAELZER e KIRK — isolato sperimentalmente da un ceppo di laboratorio (o un suo allele) — è responsabile della resistenza di popolazioni naturali dell'Illinois. La constatazione che la resistenza delle popolazioni naturali dell'Illinois è un carattere geneticamente monofattoriale è di particolare interesse, perchè proprio dai risultati di ricerche genetiche eseguite con il metodo delle dosi scalari usando un ceppo resistente raccolto in natura, due degli autori ora citati [BRUCE e DECKER, 1950] formularono per primi l'ipotesi di poligenia: in due casi indipendenti quindi gli stessi autori studiando lo stesso materiale (o materiali simili) riconobbero monofattorialità quando usarono una dose discriminante e poligenia quando usarono dosi crescenti.

PARTECIPAZIONE DEL CITOPLASMA ALLA TRASMISSIONE DELLA RESISTENZA.

L'ipotesi che il citoplasma svolga una parte attiva nella trasmissione ereditaria di forme di resistenza è stata prospettata ripetutamente ed è giustificata sia dalla supposizione che nell'uovo possa rimanere traccia di reazioni enzimatiche anormali avvenute (o possibili) nel corpo materno sia dalla generalità della comparsa della resistenza che può farla apparire come una risposta primaria alla azione degli insetticidi. Questa visione del problema è chiaramente illustrata dal seguente intervento in una discussione alla conferenza sulla resistenza agli insetticidi svoltasi a Cincinnati nel 1951: « I have had all along the feeling that this development of resistance to clorinated hydrocarbons may not be a genetic mutation but may rather be a formation of adapting enzymes to detoxifying DDT, ... I was thinking more of a cytoplasmic change » [SANBORN, 1952]. Dopo un anno, queste parole trovarono parziale conferma in una ricerca di COCHRAN et al. [1952]. Questi autori, studiando l'ereditarietà della DDT-resistenza nella *Blattella germanica*, osservarono che negli incroci tra un ceppo resistente selezionato in laboratorio e uno sensibile, le F_1 sono intermedie, ma la tolleranza è maggiore quando la resistenza è introdotta attraverso le femmine parentali; nelle F_2 non si osservano differenze significative tra i due incroci reciproci; inoltre i maschi F_1 ottenuti da ♀♀ sensibili sono più resistenti dei ♂♂ dei ceppi sensibili; perciò parte dei fattori deve essere portato dagli autosomi; la differenza tra le ♀♀ ottenute dai due incroci reciproci suggerisce che agiscano fattori citoplasmatici; lo scomparire delle differenze nelle F_2 suggerisce che i fattori citoplasmatici siano controllati da fattori genetici recessivi; durante la selezione del ceppo resistente fu notato che le differenze di tolleranza tra i sessi (i maschi sono sempre più sensibili) si accentuavano con l'aumentare della tolleranza: gli autori suppongono che questo possa essere dovuto a geni legati al sesso; tuttavia ammettono che i risultati sperimentali presentati possono essere pienamente spiegati anche senza postulare l'esistenza di geni legati al sesso. L'ipotesi che il citoplasma di origine materna determini le differenze osservate nelle F_1 si accorda perfettamente con l'insieme delle osservazioni sperimentali.

Un analogo meccanismo ereditario fu descritto per la trasmissione della DDT-resistenza nella mosca domestica. JOHNSTON, BOGART e LINDQUIST [1954] effettuarono incroci tra un ceppo resistente ed uno sensibile; essi osservarono che la resistenza nelle F_1 fu intermedia e di uguale livello nei due incroci reciproci; tuttavia nelle F_1 la resistenza risultò sempre maggiore quando era stata introdotta dalla femmina parentale; nel complesso anche i reincroci diedero risultati simili; però l'incrocio di

femmine ibride con maschi resistenti diede F_2 reincrociate aventi tolleranza più elevata di quelle ottenute dal reincrocio di una femmina resistente con maschi ibridi. Queste osservazioni sulla ereditarietà sono integrate da osservazioni complementari: nei ceppi resistenti fu osservato un rapido declino della resistenza quando furono mantenuti lontani dal contatto con il DDT; dopo questo declino un solo atto selettivo fu sufficiente per determinare un forte aumento della resistenza media; inoltre nei ceppi resistenti esiste una correlazione positiva tra durata dello sviluppo e tolleranza rilevabile sia confrontando tra loro individui precoci e individui tardivi di una stessa coltura, sia modificando la durata del periodo di sviluppo agendo con temperature opportune; in tutti i casi a maggiore durata del periodo di sviluppo corrisponde una maggiore resistenza media. Collegando questi fatti gli autori ritengono che la resistenza sia paragonabile alle *Dauer-modificationen*, e sia determinata da particelle citoplasmatiche trasmissibili anche dal maschio (per la identità delle F_1 ottenute da incroci reciproci); ammettono inoltre che esista interazione tra il citoplasma e uno o più paia di geni poichè la resistenza perdura immutata per una generazione dopo essere stata trasmessa dal maschio; ammettono inoltre che il DDT possa essere necessario per attivare la riproduzione delle particelle citoplasmatiche quando lo sviluppo delle mosche è rapido (nei ceppi allevati senza contatto con il DDT vi fu declino della resistenza), e che le particelle citoplasmatiche possano riprodursi in maniera adeguata soltanto se il periodo di sviluppo larvale è sufficientemente lungo (la resistenza è maggiore negli ultimi sfarfallati e nelle colture allevate a basse temperature). Si tratterebbe dunque di un carattere citoplasmatico che manifesta la propria natura nelle F_2 . Questa ipotesi deve ammettere che la trasmissione delle particelle citoplasmatiche avvenga con uguale efficacia attraverso gli spermi e attraverso le uova: ma questa ammissione difficilmente si accorda con la supposta necessità di prolungare la durata dello sviluppo della mosca per dare tempo alle particelle citoplasmatiche di riprodursi in quantità sufficiente per conferire la resistenza. Infatti il numero di particelle trasmissibili attraverso gli spermi, qualora fosse possibile, sarebbe sempre assai minore del numero trasmissibile attraverso le uova. Inoltre non spiega perchè nelle famiglie ottenute reincrociando individui ibridi con individui del ceppo resistente la resistenza sia maggiore quando al ceppo resistente appartiene il maschio e non la femmina.

Non risulta che gli autori abbiano vagliato e possano quindi escludere ipotesi alternative. Essi dichiarano di avere ridotto al minimo il tempo di sviluppo. Un ritmo riproduttivo accellerato è sufficente per determinare una forte selezione naturale; questa può causare declino della resistenza in un ceppo eterogeneo in cui esista (come nel caso attuale) correlazione positiva tra durata del periodo di sviluppo e tolleranza. In ognuno dei ceppi usati esistono, sia pure con frequenze profondamente diverse, individui sensibili e individui resistenti; non risulta escluso che le differenze fenotipiche siano dovute a differenze genetiche presenti in ognuno dei ceppi; questo vale sia per il ceppo resistente sia per il ceppo sensibile usato, in cui trovano individui che sopravvivono al saggio tossicologico. L'aumento della tolleranza media in seguito ad allevamenti affettuati a basse temperature può essere dovuto a sopravvivenza differenziale in favore degli individui forniti di un genotipo particolarmente adatto a quelle condizioni; nel caso particolare il fattore estrinseco (bassa temperatura) determina un prolungamento del periodo di sviluppo: tra gli individui che sfarfallano aumenta la proporzione dei resistenti, di quelli cioè intrinsecamente dotati di sviluppo più lento.

Il periodo di sviluppo è di solito minore nei maschi che nelle femmine. Tuttavia questa differenza sessuale non è costante e quando esiste può essere di grado diverso; in colture nelle quali avvengono ricombinazioni mendeliane, essa può essere evidente in qualche classe e non in altre. Se la correlazione tra durata di sviluppo e grado di tolleranza fosse minore nelle femmine che nel maschio, il prelevare gli individui primi sfarfallati per usarli negli incroci sarebbe sufficiente per determinare in incroci reciproci di massa un rapporto di geni per la resistenza quantitativamente diverso da parte dei due sessi, e maggiore da parte delle femmine che dei maschi; nel caso di un carattere recessivo, le conseguenze di questo fatto sarebbero evidenti soltanto nelle F_2

TABELLA 2 — *Ricerche sulla ereditarietà della resi*

Autore	Data e riferimento bibliografico	Organismo	Ceppi sensibili e Ceppi resistenti	loro origine
1) DICKSON	1941 (19)	*Anoidiella aurantii*		selvatico selvatico
2) YUST	1943 (81)	*Anoidiella aurantii*	Mc Kenzie Grove Wellman Parson	selvatico selvatico
3) COCHRAN et al.	1952 (11)	*Blattella germanica*	Sensibile DDT-resist.	Laboratorio Selez. in Lab.
4) LA FACE L.	1948 (39)	*M. domestica*	Roma sensib. Torre Pietra	selvatico selvatico
5) D'ALESSANDRO et al.	1948 (15)	*M. domestica*	partinicensis Tiberina	1 ♀ selvatica selvatic. selez.
6) BRUCE e DECKER	1950 (5)	*M. domestica*	Lab. 1 DDT III	NAIDM selv. selez.
7) HARRISON C. M.	1951 (23)	*M. domestica*	sens. italiano Res italiano	(Roma?) (Torre Pietra
8) LA FACE L.	1952 (40)	*M. domestica*	Roma Torre Pietra	selvatico selvatico, sele
9) KEIDING e BARBESGAARD	1953 (32) 1955 (1)	*M. domestica*	Geigy B 17e multi-res.	Laboratorio selvatic. selez
10) HARRISON C. M.	1953 (25) 1954 (26)	*M. domestica*	Roma sensibile Torre Pietra	selvatico selv. selez.
11) D'ALESSANDRO e MARIANI	1953 (17) 1954 (18)	*M. domestica*	Sensibile res (Tiberina)	Labort. (1947) selvatic. selez.
12) MAELZER e KIRK	1953 (46)	*M. domestica*	Camberra sens. Illinois (res.)	Lab. (1940) Multi-X da DD
13) NORTON	1953 (54)	*M. domestica*	Lab. 1 multi-1; Bellflower	NAIDM DDT-1; sel.
14) MILANI R.	1954 (49)	*M. domestica*	Tripoli (sens.) OK1 (multires.)	selvatico selv. (Sard.)
15) MILANI R.	1954 (48)	*M. domestica*	+Tripoli sens. +Arancio sens. *plæ*, *Kdr* (res.)	selvatico selv. (Latina) selv. Latina
16) JOHNSTON	1954 (31)	*M. domestica*	sens. Orlando; Bellflower	U.S.D.A. selv. selez.
17) LICHTWARDT et al.	1955 (44)	*M. domestica*	IR-1 IS-1	Lab. 1 (NAI DDT-1 da La
18) BUSVINE	1955 (9)	*M. domestica*	Sensibile BHC (Newman)	Laboratorio (Uruguay, sel
19) BARBESGAARDT e KEIDING	1955 (1)	*M. domestica*	Geigy B, sens. 17e (multi-res.)	Laboratorio selv. selez.

i insetti alle sostanze tossiche. Quadro sinottico.

...tticida	Saggio tossicologico	Grado di dominanza e modalità di trasmissione della resistenza	Osservazioni
HCN	Fumigazioni; dose discriminante	Dominante, monofattoriale legato al sesso	
HCN	Fumigazioni; dose discriminante	Dominante, monofattoriale legato al sesso	
DDT	Immers. sosp. acquose; dosi scalari	Intermedia; F_1 recipr. disug.	
DDT	Cont. tarsale (vetro); dose discriminante	Recessivo;	
DDT	Cont. tarsale; dose discriminante	Intermedia; non interpretata	(Ammissibile monofattorialità)
DDT	Applic. topica; dosi scalari	Intermedia; fattori multipli	Varianza aumenta in F_1.
DDT	Cont. tarsale (vetro); dose discriminante	Recessività incompleta; monofattoriale	
DDT	Cont. tarsale (vetro); dose discriminante	Recessivo; carattere complesso	(su prove negat.)
DDT	Cont. tarsale (carta); dose discriminante	Incompl. recessivo; manofattoriale	
DDT	Applic. topica; dosi scalari	Intermedia; multifattoriale	(Ammissibile monofattorialità)
DDT	Cont. tarsale; dose discriminante	Recessività incompleta; polimeria	(su prove negat.)
DDT	App. top.; cont. tars. (vetro); dose discriminante	Dominante; monofattoriale	
DDT	Nebulizzazione; dose discriminante	Intermedia; non interpretata	
DTT	Cont. tarsale, (vetro); dosi scalari	Dominante; non interpretata	(F2 non esam.)
DDT	Cont. tars. vetro e carta; dose discriminante	Recessività incompleta; monofattoriale	
DDT	Applic. topica; dose discriminante	F1 intermedia con resistenti; citoplasmatico+cromosomici	
DDT	Applic. topica; dose discrimin. (7,6 mgr.)	Dominante; monofattoriale	
BHC	Applic. topica; dosi scalari	Dominanza intermedia; multifattoriale	
BHC	Cont. tarsale (carta); dose discriminante	Incompletamente recessivo; risultati non chiari	

TABELLA 2 — *Ricerche sulla ereditarietà della resi*

Autore	Data e riferimento bibliografico	Organismo	Ceppi sensibili Ceppi resistenti	e loro origine
20) BARBESGAARDT e KEIDING	1955 (1)	*M. domestica*	Geigy B, sens. 17e (multi res.)	Laboratorio selv. selez.
21) LA FACE L.	1952 (40)	*M. domestica*	Roma sensib. Chlordane-res.	selvatico selv. sel. (Sa
22) LA FACE L.	1953 (41)	*M. domestica*	Torre Pietra Chlordane-res.	selv. selez. selv. selez.
23) CROWN J. F.	1952 (12)	*Drosophila melanogaster*	? selezionato	? Laboratorio
24) TSUKAMOTO e OGAKI	1953 (79)	*Drosophila melanogaster*	Canton-S Fukuoka	selvatico selvatico
25) OGAKI e TSUKAMOTO	1953 (55)	*Drosophila melanogaster*	suscettibile Hikone DG.	Laboratorio selvatico
26) OPPERNOORTH e DRESDEN	1953 (21) 1953 (57)	*Drosophila melanogaster*	Wild 1 Resistant	selvatico Lab. (sel. wi
27) KING J.	1954 (36,37) 1955 (38)	*Drosophila melanogaster*	Syosset Sys, 1001, 1002	selvatico laboratorio
28) BOCHNING	1954 (3)	*Drosophila melanogaster*	I seletionsreihe Berlin seletionsreihe Park rasse	Lab. (vecchio
29) OSHIMA C.	1954 (60; 61)	*Drosophila melanogaster*	Canton-S Fukuoka	selvatico selvatico
30) OSHIMA C.	1955 (62)	*Drosophila melanogaster*	Canton - S, *sca, ssa* Hikone, Kaumuryima	
31) TSUKAMOTO e OGAKI	1954 (79)	*Drosophila melanogaste*	Marcatori Hikone DG.	Laboratorio selv. selez.
32) OSHIMA	1953 (58; 59)	*Drosophila virilis*	sensibili resistenti	selv. e Lab. mercati Lab.
33) OSHIMA e HIROYOSHJ	1955 (63)	*Drosophila virilis*	Multimarcato Hikone	Laboratorio selvatico
34) TSUKAMOTO	1955 (81)	*Drosophila melanogaster*	Mutanti Canton-S Hikone-R e NS-R	Lab. e selv. selv. Lab.
35) RASMUSON	1951 (71) 1952 (72)	*Drosophila melanogaster*	Florida selez. setole	Laboratorio Laboratorio
36) HARRISON B. J.	1954 (22)	*Drosophila lagonaster*	Cy / L^4; H / sb Bayfordbory select	Laboratorio selvatico

i insetti alle sostanze tossiche. Quadro sinottico.

…tticida	Saggio tossicologico	Grado di dominanza e modalità di trasmissione della resistenza	Osservazioni
Chlord.	Cont. tarsale (carta); dose discriminante	Dominanza; non chiari; monofattorialità non esclusa	
Chlord.	Cont. tarsale (vetro); dose discriminante	Recessività; fattori multipli	(su prove negat.)
DDT e …rd.	Cont. tarsale (vetro); dose discriminante	Tolleranza diminuita in F_1 (non allelismo)	(insetticidi usati separatamente)
DDT	Cont. tarsale (carta); dosi scalari	Dom. incompleta; almeno 1 gene per autosoma, forse multifatt.	
DDT	Pabulum larvale; dose discriminante	Dominante; 1 o pochi oligogeni (II° Cr., vicino al locus *vg*)	
DDT	Pabulum larvale	Dominante; monofattoriale; (II° Cr. presso *vg*, *sca*)	
BHC	Cont. tarsale (carta); dosi scalari	Intermedia; (poligenica); significativo effetto del II° Cromosoma	
DDT	Aerosol dosi scalari	Intermedia; multifattoriale o sistema poligenico	
DDT	Cont. tarsale (vetro); dosi scalari	Dominanza incompleta; multifattoriale	
DDT	Adulti (come?)	Dominante; poligenico con oligogene (II cr.) e modif. (III cr.)	
DDT	Contatto con dose discriminante	Geni del II° e III° (II° azione maggiore)	
BHC	Pabulum larvale	Dominante; oligogene II° Cr. localizz. uguale DDT-res.	
DDT	Cont. tarsale (vetro)	Oligogene sul V° Cr.	(V° Cr. *virilis* e II Cr. mel. omologi)
DDT	Pabulum larvale; dose discriminante	Geni dominanti II° e V° Cr.	
Solfato …cotina	Pabulum larvale; dose discriminante	Dominanza incompleta; oligogene III Cr. e modificatori	
Etere	Vapori; dose discriminante	F1 matrocline; effetto materno	
HCN	Vapori	Gene (o geni) II° Cr.; non alleli con geni BHC e DDT-res.	

TABELLA 3

Ipotesi formulate	Dose discriminante	Dosi scalari	Totale
Carattere monofattoriale (almeno un oligogene)	13 n.° d'ordine nella tab. 2: 30 *af*; 34 *af*; 1; 2; 7; 9; 12; 15; 17; 24; 25; 31; 32	0	13
Poligenico multifattoriale	[3] n°. d'ordine nella tab. 2: [8 e 21]; [11]	6 + 1 n. d'ordine nella tab. 2: 10 *m*; 28 *m*; 6; 18; 23; (26); 27	10
Altre interpretazioni; ipotesi non formulate; dati incompleti	11 n°. d'ordine nella tab. 2: 5 *m*; 16 *c*; 35 *c*; 4; 13; 19; 20; 22; 29; 33; 36	2 n. d'ordine nella tab. 2: 3 *c*; 14	13
Totale . . .	27	9	36

Il numero delle ricerche corrispondenti ad ogni casella è indicato nella posizione centrale; le singole ricerche sono individualmente indicate con il numero di riferimento che esse hanno nella tabella 2.

Le lettere *af* indicano che è stato accertato o sospettato l'intervento di altri fattori; la lettera *c* indica partecipazione del citoplasma nella trasmissione della resistenza; la lettera *m* indica che, secondo il presente autore, i risultati ammettono o suggeriscono ipotesi di monofattorialità; le parentesi indicano giudizii formulati con riserva ( ) o su prove negative [ ].

Su 36 ricerche, 23 consentirono di formulare ipotesi sulle modalità di trasmissione della resistenza; questa risultò monofattoriale in 13 casi e fu interpretata come carattere geneticamente complesso in 10.

I saggi che portarono alla ipotesi di monofattorialità furono tutti eseguiti con una dose discriminante; le ipotesi di poligenia o di multifattorialità sono imperniate sui risultati di saggi effettuati con dosi scalari, salvo in tre casi in cui furono avanzate perchè le segregazioni osservate non si accordavano con rapporti mendeliani semplici (elementi di prove negativi).

---

mentre nel caso di un carattere semidominante sarebbero più evidenti nelle F_2 che nelle F_1. Queste ipotesi non pretendono di fornire agli esperimenti di altri autori una interpretazione alternativa: tuttavia mirano ad indicare la possibilità di speculazioni diverse sugli stessi dati. L'ipotesi che la resistenza sia un carattere citoplasmatico, richiede in questo caso il sostegno di molte altre ipotesi sussidiarie; tutto il complesso sarebbe assai più convincente se fosse stato criticamente provato che gli stessi fatti non possono essere attribuiti ad eterogeneità genetica dei ceppi ed a differenze biologiche tra i genotipi in essi presenti.

In *Drosophila melanogaster* fu osservato che esistono differenze di suscettibilità all'etere etilico tra i ceppi [RASMUSON, 1951, 1952]. Esperimenti di incrocio permisero di accertare che tra le femmine F_1 ottenute da incroci reciproci di ceppi normali e ceppi sensibili, esistono differenze dello stesso ordine di grandezza di quelle esistenti

tra i ceppi usati per l'incrocio; la sensibilità delle femmine ibride è simile a quella delle femmine del ceppo da cui proviene la madre; siccome le femmine ottenute da incroci reciproci hanno genotipi uguali, ma differiscono per il citoplasma recevuto dalla madre, le differenze di sensibilità debbono dipendere da un effetto materno. Inoltre fu osservato che l'anestesia induce una certa resistenza transitoria, che raggiunge il massimo dopo 8 ore nei ceppi resistenti, e dopo due nei ceppi sensibili; tuttavia dopo 32 ore questi ceppi sono di nuovo nelle condizioni originarie. Appare opportuno ricordare a questo proposito che in *Drosophila melanogaster* è nota una particolare sensibilità all'anidride carbonica, trasmessa attraverso il citoplasma materno da particelle capaci di riproduzioni autonoma [L'Heritier P. e Teissier, 1937-1938]. Questo carattere fu osservato anche in linee sottoposte a selezione per DDT-resistenza, ma risultò da questa indipendente [Tattersfield F. e Kerridge J. R., 1952a; 1953b].

Esperimenti incompleti e notizie occasionali.

Le ricerche fin qui ricordate consentirono di formulare ipotesi sulla ereditarietà della resistenza. Sono inoltre state pubblicate altre interessanti notizie basate su osservazioni frammentarie e su esperimenti incompleti. Barbesgaard e Keiding [1955] osservarono l'ereditarietà della resistenza al Chlordane e al BHC. Queste ricerche, che gli autori descrivono in modo piuttosto sommario, non portarono a risultati conclusivi; fu riscontrata nei due casi dominanza incompleta della resistenza. Nel caso della BHC-resistenza le F inincrociate e i reincroci non diedero chiare segregazioni; risultati simili furono ottenuti anche con la Chlordane-resistenza, però in un reincrocio un gruppo compatto di individui sensibili suggerisce segregazioni semplici. E' opportuno ricordare che Busvine e Kan, che saggiarono la BHC-resistenza con dosi scalari e conclusero formulando una ipotesi di poligenia ritrovarono nelle F individui sensibili quanto quelli del ceppo sensibile usato nell'incrocio [Busvine e Kan, 1955]. Barbesgaard e Keiding appurarono anche che il gene per la DDT-resistenza non è indispensabile per la BHC-resistenza, ma forse la sua presenza può intensificarla; se la resistenza al Chlordane è monofattoriale, è certamente dovuta ad un gene diverso da quello per la DDT-resistenza; i rapporti tra BHC-resistenza e Chlordane-resistenza non sono chiari; queste ricerche non fornirono alcuna prova di ereditarietà citoplasmatica o legata al sesso; il non allelismo della resistenza a DDT e della resistenza a Chlordane è dedotta dalle proprietà dei ceppi e dalle osservazioni compiute in natura. Concordano però con saggi di allelismo effettuati da La Face [in stampa] dei quali si parlerà in un capitolo successivo.

Oltre alle ricerche ora riportate, esistono nella letteratura citazioni di osservazioni meritevoli di essere ricordate.

D'Alessandro et al. [1948] osservarono in un ceppo sensibile derivato da una sola coppia, che nel volgere di almeno 20 generazioni «mai si è osservata mutazione di tale carattere»; inoltre da una coppia di individui super-resistenti ottennero individui omogeneamente super-resistenti; l'incrocio di una ♀ super-resistente con un maschio sensibile diede una F intermedia (90% medio-resistenti). Nelle generazioni successive osservarono le seguenti frequenze percentuali:

	Sensibili	Medio-resistenti	Super-resistenti
F_2	35,6	51,1	12,7
F_3	24,2	73,1	2,7

Gli autori non formularono interpretazioni di queste osservazioni preliminari che tuttavia consentirono loro di riconoscere che «i due caratteri, sensibilità e resistenza al DDT si trasmettono ereditariamente alla prole e non subiscono nel corso di molte generazioni apparenti modificazioni».

Questi dati sono di notevole interesse non soltanto perchè sono i primi del genere pubblicati (risalgono al 1948), ma soprattutto perchè possono essere ricollegati a problemi già trattati. La possibilità di ottenere un ceppo resistente omogeneo e stabile da

una sola coppia di individui resistenti suggerisce fortemente che il carattere in oggetto abbia un controllo genetico semplice; le frequenze percentuali delle classi di segregazione suggeriscono nelle F_2 e si accordano nella F_3 con rapporti mendeliani semplici; in queste condizioni sperimentali gli individui meglio discriminabili sembrano essere quelli sensibili, per cui i rapporti di segregazione suggeriscono dominanza della resistenza; dai dati delle F_1 risulta che in realtà gli individui eterozigoti hanno tolleranza intermedia ed essenzialmente diversa da quella dei ceppi parentali (solo il 5,5 di minus- e il 4,5 di plus-svarianti presentano livelli di tolleranza che compaiono nei ceppi usati per l'incrocio); è plausibile che le differenze tra la F_2 e la F_3 dipendano da variazioni accidentali la cui portata può essere notevole in classificazioni non naturali (gli autori definiscono « medio-resistenti » gli esemplari che resistono da un'ora ad alcune ore, super-resistenti quelli che resistono per 24 ore e più). Tuttavia in base alle frequenze delle classi di ricombinazione nella F_3 il carattere appare dominante, in accordo quindi con le osservazioni di MAELZER e KIRK [1953] e di LICHWARDT et al. [1955a].

I risultati di esperimenti successivi degli stessi autori presentano un grande accordo con questi, accordo che denota una sorprendente stabilità delle differenze genetiche esistenti nei due ceppi usati per gli incroci; tale stabilità si accorda assai più facilmente con differenze genetiche semplici che con differenze complesse. I dati delle due serie sono qui accostati, adattando quelli del 1954 allo stesso criterio di classificazione adottato per la serie 1948:

	Sensibili	Medio-resistenti	Super-resistenti
Esp. 1948; F_2	35,6%	51,7%	12,7%
Esp. 1953-54; F_2	37 %	45 %	19 %

E' opportuno ricordare che il ceppo resistente usato da D'ALESSANDRO et al. deriva dal ceppo « *tiberina* » e fu inviato a questi autori dal prof. Missiroli. Dalla stessa regione geografica (e molto probabilmente dallo stesso ceppo di laboratorio) deriva il ceppo resistente ripetutamente usato da HARRISON e da BUSVINE nel quale, come si è visto, è stata constatata l'esistenza di un oligogene che ne determina l'elevato livello di tolleranza.

MARCH [1952] ricorda ricerche genetiche fatte a coppie singole che non hanno fornito chiare prove di ereditarietà monofattoriale; queste ricerche sono basate sulla mortalità e non sull'abbattimento. La citazione non dà però altri particolari

Infine occorre ricordare gli esperimenti di incrocio fatti da NORTON [1953]. Questo autore usò ceppi resistenti tra loro diversi per l'origine e per il livello medio della tolleranza; incroci con un ceppo sensibile di laboratorio diedero popolazioni F_1 con tolleranza approssimativamente intermedia a quella dei ceppi parentali; il livello di tolleranza non variò apprezzabilmente nelle successive dieci generazioni e fu costantemente maggiore nelle progenie di uno dei due incroci reciproci (non è indicato quale); ma è dubbio che tale differenza indichi caratteristiche legate al sesso. Reincroci successivi con i due ceppi parentali diedero rispettivamente aumento o diminuzione della resistenza progressivi e quasi simmetrici; nelle serie di reincroci con il ceppo resistente, il livello di tolleranza fu sempre leggermente maggiore quando il genitore resistente era il maschio. Questo lavoro mi è noto soltanto attraverso un riassunto dal quale non risulta che l'autore abbia formulato interpretazioni genetiche. Questi risultati richiamano quelli di BRUCE e DECKER [1950] per la tolleranza intermedia nelle F_1 e per la costanza del livello nelle generazioni successive a questa. Le differenze tra gli incroci reciproci richiamano le osservazioni di JOHNSTON et al. [1954]; tuttavia questi ultimi autori osservarono le differenze nelle F_2 e non nella F_1; inoltre non è chiaro se l'incrocio che dà maggiore resistenza sia lo stesso nei due casi; in un punto però le due ricerche concordano perfettamente: infatti nei due casi i reincroci danno tolleranza maggiore quando il genitore resistente è il maschio. Abbiamo visto che questo è

uno dei fatti che più inficiano l'ipotesi di JOHNSTON et al. che la resistenza sia carattere citoplasmatico. Inoltre il declino o l'aumento della tolleranza in seguito a reincroci avvengono in modo perfettamente corrispondente a quello descritto e assunto a prova di polifattorialità da BOCHNING in *Drosophila* (pag. 228). Tuttavia il ceppo usato da NORTON per i reincroci successivi ha origine comune con il ceppo in cui MAELZER e KIRK prima e successivamente LICHTWARD et al. accertarono che la resistenza è geneticamente monofattoriale. Questo conferma l'osservazione già fatta, che i risultati di BOCHNING non escludono la monofattorialità del carattere. Gli esperimenti di NORTON saranno citati ancora in seguito, a proposito dei saggi di allelismo.

(*segue*)

BIBLIOGRAFIA

1) BARBESGAARD P. e KEIDING J. (1955): Crossing experiments with Insecticide-Resistant House flies. *Vidensk Medd. fra Dansk naturh. Foren, 117*, 83-116.
2) BOCHNING V. (1952): The mode of inheritance of DDT-resistance in Drosophila. *DIS-26*, 91
3) BOCHNING V. (1954): Genetische Untersuchungen zur DDT-resistenz an D.m. *Z.i. Abstamm. u. Vererblehre 86*, 185-209.
4) BROWN A. W. A. (1951): Insect control by chemicals. New York John Wiley e Sons, Inc. pp. 759-63.
5) BRUCE W. N. and DECKER G. C. (1950): House-fly tolerance for insecticides. *Soap and Sanitary Chemicals XXVI*, 122-125, 145-147.
6) BUSVINE J. R. (1951): Mechanism of resistance to insecticide in houseflies. *Nature (London)*, 168-193.
7) BUSVINE J. R. (1953a): Forms of insecticide-resistance in houseflies and body lice. *Nature, 171*, 118-121.
8) BUSVINE J. R. (1953a): Laboratory investigations with insecticide resistant houseflies. *Trans. Ninth Int. Congr. Ent.* II, 335-339.
9) BUSVINE J. R. and KAN H. (1955): Inheritance of BHC-resistance in the Housefly. *Trans Roy. Soc. trop. Med. Hygiene 49*, 455-459.
10) Centro Document. Presidenza Cons. Ministri Rep. Ital. (Roma) (1952): La lotta vittoriosa contro la malaria. Documenti vita Italiana. Nov. 1952: 781-786.
11) COCHRAN D. G.; GRAYSON J. M.; LEVITAN M. (1952): Chromosomal and Cytoplasmic factors in transmission of DDT-resistance in the german Cockroach. *Jour. econ. Entom. 45*, 997-1001.
12) CROWN J. F. (1952): Some genetic aspects of selection for resistance. *Nat. Res. Couc. Publ. 219*, 71-78.
13) CROWN J. F. (1954): Analysis of a DDT-resistant strain of Drosophila. *Jour. econ. Ent. 47*, 393-398.
14) CROWN J. F. e SMIT D. (1952): DDT-resistance. *DIS-26*, 97.
15) D'ALESSANDRO G., CATALANO G., MARIANI M., SCERRINO E., SMIRAGLIA C. e VALGUARNERA (1948): Sulla resistenza delle mosche al DDT. *Atti XII Congr Naz. Igiene (Palermo)*; 323-337.
16) D'ALESSANDRO G., MARIANI M. (1953a): Indagini sull'azione degli insetticidi clorurati e sui fenomeni di resistenza alla Musca domestica. *Riv. Igiene San. Publica IX*, 706-711.
17) D'ALESSANDRO G. e MARIANI M. (1953b): Osservazioni sulla eredità dei caratteri, resistenza e sensibilità agli insetticidi clorurati in *Musca domestica. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* XXIV, 687-689.
18) D'ALESSANDRO G. e MARIANI M. (1954): Osservazioni sulla eredità dei caratteri « resistenza » e « sensibilità » al DDT in *Musca domestica L. Riv. Parassitologia XV*, 85-94.

19) Dresden D. e Oppenoorth F. J. (1951): Selecting strains resistant to gamma-HCCH (hexachlorocyloexane). *DIS-25*, 105.

20) Dresden D. e Oppenoorth F. J. (1953): Some properties of a HCCH-resistant strain. *DIS-27*, 87.

21) Dickson R. C. (1941): Inheritance of resistance to HCN fumigation in the California red scale. *Hilgardia*, *13*, 515-22.

22) Harrison B. J. (1954): HCN resistance in *D. melanogaster*. *DIS-28*, 122.

23) Harrison C. M. (1951): Inheritance of resistance to DDT in the housefly, *Musca domestica L. Nature* (*London*) *167*, 855-856.

24) Harrison C. M. (1952a): The resistance of insects to insecticides. *Trans Royal Soc. Trop. Med. Hygiene 46*, 255-263.

25) Harrison C. M. (1953): DDT-resistance and its inheritance in the housefly. *Jour. econ. Ent. 46*, 528-530.

26) Harrison C. M. (1954): Genetical aspects of DDT-resistance in housefly. *Ist. Int. Symp. Control Ins. Vect.*, *DIS*, 234-252.

27) Hess A D. (1952): *Nat. Res. Counc. Publ. 219*, 17.

28) Hough W. S. (1928): Relative resistance to arsenical poisoning of two codling moth strains. *Journ. econ. Entom. 21*, 325-9.

29) Hough W. S. (1929): Studies of the relative resistance to arsenical poisoning of different strains of codling moth larvae. *Jour. Agr. Research*, *38*, 245-56.

30) Hough W. S. (1934): Colorado and Virginia strains of codling moth in relation to their ability to enter sprayed and unspraied apples. *Jour. Agr. Res. 48*, 533-53.

31) Johnston E. F., Bogart R., Linquist A. W. (1954): The resistance to DDT by houseflies. Some genetic and environmental factors. *J. Heredity 45*, 177-82.

32) Keiding J. (1953): Development of resistance in the field and studies of inheritance. *Trans. IXth Inter. Congr. Entomology*, *2*, 340-345.

33) King J. (1953a): Development of resistance to DDT in Dr. melanogaster. *DIS-27*, 96-97.

34) King J. (1953b): The genetics of resistance to insecticides. *L.I.B.A. Annual Report 1953*, 1-3.

35) King J. C. (1953c): The genetics of resistance to insecticides. *Biol. Lab.* (*Cold. Spring Harb.*) *63*, 36-38.

36) King J. C. (1954a): The genetics of resistance to DDT in Drosophila melanogaster. *Jour. econ. Ent. 47*, 387-393.

37) King J. C. (1954b): The genetics of resistance to insecticides. *Biol. Lab.* (*Cord Spring Harb.*) *64*, 39-43.

38) King J. C. (1955): Integration of the gene pool as demonstrated by resistance to DDT. *The Amer. Nat. LXXXIX*, 39-46

39) La Face L. (1948): La mosca domestica, la sua importanza come vettore di malattie e la possibile esistenza di più razze nell'ambito della specie. *Rend. Ist. Sup. Sanità* (*Roma*) *XI*, 1287-1345.

40) La Face L. (1952): Sul comportamento ereditario della resistenza ad alcuni insetticidi in M. domestica. *Riv. di Paras. XIII*, 57-60; *Rend. Ist. Sup. di Sanità*, *XV*, 376-380.

41) La Face L. (1956): Contributo alle ricerche dei fattori determinanti la resistenza al DDT e al Chlordane in *Musca domestica*. *Rend. Ist. Sup. San. XIX*, 363.

42) L'Heritier P. and Teissier G. (1937): Une anomalie physiologique héréditaire chez la Drosophile. *C.R. Acad. Sci* (*Paris*), *205*, 1099-1101.

43) L'Heritier and Teissier G. (1938): Un mécanisme héréditaire aberrant chez la Drosophile. *C.R. Acad. Sci* (*Paris*), *207*, 1193-1195.

44) Lichtward E. T. Wilbur M. Luce, Decker G. C. and Bruce W. N. (1955a): A genetic test od DDT resistance in field houseflies. *Ann. Entom. Soc. America 48*, 205-210.

45) Lichtward E. T., Willis N., Bruce W. H. e Decker G. C. (1955b): Notes on the inbreeding of houseflies *Jour. econ. Entom. 48*, 301-303.

46) MAELZER D. A. e KIRK R. L. (1953): A preliminary study of the genetics of DDT-resistance in housefly. *Aust. J. Biol. Sci. 6*, 244-256

47) MARCH R. B. (1952b): Summary of research on insects resistant to insectides. *Nat. Res. Counc. Publ. 219*, 45-55.

48) MILANI R. (1954a): Comportamento mendeliano della resistenza alla azione abbattente del DDT e correlazione tra abbattimento e mortalità in *Musca domestica L. Riv. di Paras., XV*, 513-542.

49) MILANI R. (1954b): Genetic aspects of the development of resistance to chemical insecticides. *1° Symp. Int. Lotta contro gli insetti, Ist. Sup. San. (Roma)*, 254-274

50) MILANI R. (1955a): Comportamento ereditario dei caratteri knock-down resistance (kdr) e plexus (plx) in Musca domestica L. Conv. Genetica; *Ricerca scientifica, (suppl.) 25*, 67-75.

57) MILANI R. (1956): Some aspects of the genetic research on insecticide resistance. *(Multigraph e in stampa)*.

52) MILANI R. e FILIPPONI A. (1954): Osservazioni sulla distribuzione della tolleranza in popolazioni di mosche della provincia di Latina (*non pubbl.*).

53) MOSNA E. e ALESSANDRINI M. (1954): L'impiego degli esteri fosforici nella lotta contro la mosca domestica nella provincia di Latina. *Riv. Parassitologia, XV*, 543-556.

54) NORTON R. J. (1953): Inheritance of DDT tolerance in the housefly. *Contr. Boyce Thompson Inst. 17*, 105-126, e *Rev. appl. Entom. B*, 42, 94 (1954).

55) OGAKI M. e TSUKAMOTO M. (1953): Genetical analysis of DDT-resistance in some Japanise strains of D.M. *Botyu-Kagaku, 18*, 100-104.

56) OGAKI M. e TSUKAMOTO M. (1954): DDT and BHC resistance. *DIS-28*, 149.

57) OPPENOORTH F. J. and DRESDEN D. (1953): Selection of a BHC-resistant strain of *D. melanogaster. Bull. ent. Res. 44*, 395-400.

58) OSHIMA C. (1953a): Genetic studies on DDT-resistance in wild and mutant strains of *D. virilis. DIS-27*, 109.

59) OSHIMA C. (1953b): The genetics of resistance to insecticides in Drosophila. III°: Studies on DDT-resistance in D. virilis (abst.) *Jap. J. Genet. 28*, 183.

60) OSHIMA C. (1954a): DTT resistance in populations of D. melanogaster. *DIS-28*, 150.

61) OSHIMA C. (1954b): Genetical studies on DDT-resistance in populations of D. m. I: *Botyu-Kagaku, 19*, 93-100.

62) OSHIMA C. (1955): Analysis of DDT resistance in D. melanogaster by population genetics. *DIS-29*, 151-2.

63) OSHIMA C. e HIROYOSHI T. (1955): Gene Analysis of DDT resistance in D. virilis. *DIS-29*, 152-153.

64) PAL R. e SHARMA M. I. D. (1953): Laboratory studies on the development of a resistant strain of Musca nebulo. *Trans. IX° Inter. Congr. Entom. II*, 346-351.

65) PAMPANA E. J. (1951): Lutte antipaludique par les insecticides a action rémanente. *Bull. Org. mond. Santé, 3*, 557-619.

66) PAMPANA E. J. (1956): Informazione personale; lettera 8 Febbraio 1956.

67) QUAYLE H. J. (1916): Are scales becoming resistant to fumigation. *Calif. Univ. Jour. Agr. 3*, 333-34, 358.

68) QUAYLE H. J. (1922): Resistance of certain scale insects in certain localities to hydrocyanic acid fumigation. *Jour. econ. Ent. 15*, 400-4.

69) QUAYLE H. J. (1932): Biology and control of citrus insects and mites. *Calif. Agr. Exp. Sta. Bull. 542*, 1-87.

70) QUAYLE H. J. (1938): The development of resistance in certain scale insects to hydrocyanic acid. *Hilgardia, 11*, 183-225.

71) RASMUSON B. (1951): Ether susceptibility of two stocks of *Drosophila melanogaster. Hereditas, XXXVII*, 560-561.

72) RASMUSON B. (1952): Evidence of an autonomous cytoplasmic system in *Drosophila melanogaster*, influencing the resistance to ether. *Hereditas, 38*, 504-505.

73) SANBORN R. L. (1952): *Nat. Res. Counc. Publ. 219*, 70.

74) Simmons S. W. (1954): Public health significance of insect resistance to insecticides and future orientation of vector control programs. *I° Int. Symp. Control Ins. Vector Dis. (Rome).*
75) Smyth T. (1954): (Citato da Chadwich, *Nat. Res. Counc. Publ. 219*, 228).
76) Tattersfield F. e Kerridge J. R. (1952): The development of DDT resistance in Drosophila and the effect of CO_2 susceptibility upon it. *DIS 26*, 125.
77) Tattersfield F. e Kerridge J. R. (1953): The effect of repeated spraying of insects in increasing their resistance to insecticides. II° the effect of carbon dioxide sensitivity on the toxicity of DDT in a strain of D.m. Meig. *Ann. appl. Biology, 40*, 523-536.
78) Tsukamoto M. e Ogaki M. (1953): Inheritance of resistance to DDT in D.m. *Botyu-Kagaku, 18*, 39-44.
79) Tsukamoto M. e Ogaki M. (1954a): Gene analysis of resistance to DDT and BHC in D.m. *Botyu-Kagaku 19*, 25-32.
80) Tsukamoto M. e Ogaki M. (1954b): Nicotine resistance. *DIS-28*, 164.
81) Tsukamoto M. (1955): Mode of inheritance of resistance to nicotine sulfate in *Drosophila melanogaster. Botyu-Kagaku 20*, 73-81.
82) Yust H. R., Nelson H. D. e Busbeyg R. L. (1943): Comparative susceptibility of two strains of California red scale to HCN, with special reference to inheritance of resistance. *Journ. econ. Ent. 36*, 744-9.
84) Wiesmann R. (1947): Untersuchungen über das physiologische Verhalten von *Musca domestica L.* verschiedener Provenienzen. *Mitt. Schw. Entomol. Geselschaft XX*, 484-504.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVII - N. 4 - Ottobre 1956

NOTE E OSSERVAZIONI

INFLUENZA DEL SIERO DI CAVALLO SULLA CRESCITA DEL *TRICHOMONAS VAGINALIS* E *TRICHOMONAS HOMINIS* IN TERRENO FLUIDO AL TIOGLICOLATO

Nel corso di una ricerca per la messa a punto di un terreno adatto alla conservazione di ceppi puri di *Trichomonas vaginalis* e *Trichomonas hominis*, ho osservato la crescita di questi due protozoi, in assenza di batteri, in un terreno fluido al tioglicolato addizionato di siero di cavallo.

Il terreno al tioglicolato, disponibile sul mercato in forma disidratata, è di semplicissima preparazione, ed offre i vantaggi di una alta costanza di composizione. Prove preliminari mostrarono che la quantità di siero aggiunta ha forte influenza sulla crescita e la durata dei due flagellati. Ho perciò seguito mediante conteggi quotidiani in cellula di Bürcher lo sviluppo del *T. vaginalis* e del *T. hominis* nel brodo al tioglicolato a varie concentrazioni di siero di cavallo.

Parte sperimentale

1) *Metodo di cultura*

Furono usate semplici provette da batteriologia 160×15 mm. con tappi di cotone.

Non ho creduto necessario usare le provette di Hall per culture in anaerobiosi, secondo quanto consiglia Magara (1) perchè l'ambiente anaerobico è garantito dalla presenza nel brodo di acido tioglicolico e di agar.

2) *Terreno di cultura*

E' il « Bacto Fluid Thioglycollate Medium dehydrated » della Difco. La sua composizione per litro (escluso il volume di siero aggiunto) è:

Estratto di lievito	5	gr.
Casitone	15	»
Glucosio	5	»
Cloruro sodico	2,5	»
L-cistina	0,75	»
Acido tioglicolico	0,3	cc.
Agar	0,75	gr.
Resazurina	0,001	»

Si sterilizza 20′ ad 1 atmosfera. pH 7,1.

Si aggiungono 1000 μg/cc di diidrostreptomicina. Si distribuisce sterilmente il terreno nelle provette, e si aggiungono determinate quantità di siero di cavallo sterile in modo che il volume finale del fluido sia di 9,9 cc. esatti.

Tabella 1

« Trichomonas hominis » *(in migliaia/cc) in terreno al tigliocolato + siero di cavallo. Conteggi eseguiti in cellula di Bürcher.*

% siero	3	4	5	6	8	10	12	15	20
giorni a 37° C									
Semina	10	10	10	10	10	10	10	10	10
1	10	15	20	40	60	70	50	45	80
2	10	20	38	50	110	310	160	210	65
3	10	20	60	60	290	730	1150	800	350
4	10	30	60	180	930	640	910	950	800
5	5	20	60	200	500	20	30	100	960
6	5	20	80	160	30	—	—	—	70
7	10	30	100	280	5				—
8	10	30	105	300	—				
9	20	20	100	100					
10	20	20	130	16					
11	30	30	200	—					
12	35	30	150						
13	35	20	50						
14	40	30	10						
15	30	30	—						
16	30	40							
21	45	60							
24	45	50							
27	60	30							
33	60	—							
34	—								

TABELLA 2

« Trichomonas vaginalis » (*in migliaia/cc*) *in terreno al tioglicolato + siero di cavallo. Conteggi eseguiti in cellula di Bürcher.*

°/₀ siero	0,5	1	2	3	4	5	7	10	15	20
giorni a 37° C										
semina	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
1	7	10	12	20	40	35	40	60	70	80
2	8	10	20	70	100	95	75	100	150	130
3	7	13	45	570	600	800	820	1050	1180	1250
4	7	15	107	1200	1560	1500	1910	1520	1120	1580
5	8	25	180	1200	1660	1200	1100	920	1000	1100
6	10	30	570	640	60	70	40	40	70	60
7	12	70	720	50	—	—	20	—	20	50
8	10	80	980	1			1		1	—
9	10	80	1100	—			—		—	
10	7	90	640							
11	5	100	50							
12	5	120								
13	4	80								
14	4	70								
15	4	35								
19	1	40								
21	1	20								
26	1	15								
29	1	15								
33	1	—								
36	—									

3) *Tecnica di cultura*

Culture pure di un ceppo di *T. hominis* dell'Institut Pasteur di Parigi, recentemente liberato dai batteri (2) e di un ceppo di *T. vaginalis* recentemente liberato da muffe e batteri (3,4,5), coltivate per 4 giorni nel terreno al tioglicolato al 10% di siero di cavallo, vengono portate ad una concentrazione di 1.000.000 di cellule/cc.

Nelle provette contenenti i terreni sopra descritti vengono seminate quantità di 0,1cc. di queste sospensioni. Le provette vengono incubate a 37°C. Lo sviluppo di queste culture viene seguito mediante conteggi quotidiani alla cellula di Bürcher.

4) *Risultati*

I risultati vengono sommarizzati nelle tabelle 1 e 2 che si riferiscono ad esperimenti condotti in parallelo.

Conclusione

a) Il *Trichomonas hominis* ed il *Trichomonas vaginalis* hanno nel terreno sopra descritto un comportamento analogo. Per lo sviluppo entrambi hanno bisogno di siero di cavallo. La dose minima necessaria alla crescita del *T. hominis* (3-4%) è di alcune volte superiore a quella richiesta dal *T. vaginalis* (0,5-1%). Questi ultimi dati corrispondono a quelli riportati da Kupferberg e coll. (6) per il siero umano in un altro terreno.

b) Concentrazioni di siero superiori al 3% per il *T. vaginalis* e al 10% per il *T. hominis* permettono ai protozoi di raggiungere concentrazioni vicine al milione di cellule/cc. Questo terreno, salvo casi particolari, non è tuttavia consigliabile per la produzione in massa di protozoi, perchè la crescita vi è più lenta che non in altri terreni, e la presenza di agar ostacola la concentrazione e il lavaggio per centrifugazione (7).

c) Alle concentrazioni di siero che permettono il massimo sviluppo, la vitalità dei protozoi si esaurisce rapidamente, per l'accumulo nel terreno di prodotti tossici.

d) Per concentrazioni inferiori a quelle ottimali, lo sviluppo è ritardato e la vitalità dei protozoi è prolungata.

Concentrazioni di siero tra lo 0,5 e l'1% per il *T. vaginalis*, e tra il 3 e il 4% per il *T. hominis* permettono ai protozoi di sopravvivere per circa un mese. Per la conservazione dei ceppi per subculture è necessario che i protozoi insemenzati, oltre a conservarsi vitali per lungo tempo, possano anche fino ad una certa misura moltiplicarsi. per ottenere questo risultato sembra che le concentrazioni più opportune di siero di cavallo siano dell'1% per il *T. vaginalis* e del 4% per il *T. hominis*.

Devo per ultimo far notare che usando diverse partite di siero non si ottengono sempre identici risultati. Alcune partite, pur ottenute dallo stesso fornitore, devono essere usate in quantità alquanto superiori o inferiori a quelle riportate nelle tabelle 1 e 2, perchè i quadri di crescita e di conservazione di questi protozoi corrispondano a quelli quì riportati. Probabilmente nei vari campioni di siero di cavallo sono presenti quantità diverse di un fattore indispensabile per la crescita dei tricomonas.

Si può osservare nelle tabelle 1 e 2 che la durata della vitalità di questi flagellati, è fortemente influenzata da piccole variazioni delle quantità di siero aggiunte: passando dal 4 al 5%, la durata del *T. hominis* scende da circa 1 mese a 15 giorni. Analoga influenza può avere la diversa concentrazione del probabile fattore di crescita in diverse partite di siero. Qualora si adottino terreni di questo tipo, a basso contenuto di siero, per la conservazione di ceppi di tricomonas, è quindi necessario poter disporre di quantità notevoli di una stessa partita di siero, che, dopo un saggio preliminare, possa essere utilizzata per successive preparazioni standardizzate.

I. de Carneri

Istituto Carlo Erba per Ricerche Terapeutiche,
Laboratorio di Microbiologia, Milano.

BIBLIOGRAFIA

1) MAGARA M. AMINO E., YOKOUTI E. (1953): One method for the pure culture of *Trichomonas vaginalis*. *Am. J. Trop. Med. Hyg. 2*, 267 - 270.
2) DE CARNERI I. (1955): *Trichomonas hominis* cultured without bacteria. *Nature 176*, 605.
3) DE CARNERI I. (1956): Isolation of *Trichomonas vaginalis* from fungi and bacteria. *Am. J. Trop. Med. Hyg. 5*, 210 - 212.
4) DE CARNERI I. (1956): Conservation of trichomonas in monobacterial cultures. *Am. J. Trop. Med. Hyg. 5*, 677-680.
5) DE CARNERI I. (1956): Azione dei due antipodi ottici del treo - cloramfenicolo, e di sostanze correlate, su alcuni protozoi parassiti. *Il Farmaco.* in corso di stampa.
6) KUPFERBERG A. JOHNSON G. SPRINGE H. (1948): Nutritional requirements of *Trichomonas vaginalis. Proc. Soc. Exp. Biol. and. Med. 67*, 304 - 308.
7) FEINBERG J. G. (1953): A method for the bulk growth of a parasitic protozoan. *Nature, 171*, 1165 - 1166.

DETERMINATION OF THE KNOCK-DOWN EFFECT OF INSECTICIDES IN KEROSENE SOLUTIONS

The following lines describe a method of determining the knockdown effect of diluted insecticides in the laboratory; it is possible, with this method, to make a large number of accurate determinations in a short time. It is well suited for the qualitative differentiation of various insecticides and, within certain limits, it can also be used for the quantitative determination of a known insecticide in solution. Besides the advantage of rapidity it is also an economic technique.

1. TECHNICAL DATA

The apparatus consists of a mist gun and an exposure box.

1.1 *Mist gun*

The mist gun is constructed with a normal paint-spraying gun («Concentric»; Serva-Technik A. G., Zürich). The main air-pressure tube is devided in two branches, one leading straight to the nozzle (3) and another to the nozzle (4). These two nozzles are directly apposed. The result is that two streams of air of equal intensity are blown facing each other. Nozzle (3) sprays a mixture of air and insecticide solution, and nozzle (4) only sprays air. The paint container (2) has been replaced by a container for insecticide solutions.

When the tumbler of the gun (11) is pressed, both nozzles come into action almost simultaneously. The spray from nozzle (3) is broken by the air coming out of nozzle (4), a fine aerosol being formed. The distance between nozzles (3) and (4) is 15 cm.

The tube leading the air to nozzle (4) is kept in place by two metal rods (9), the front-piece of the apparatus forming a triangle.

1.2 *Exposure box*

The exposure box is made of wood and is open at the top. One of the small sides facing the operator allows the introduction of the mist gun through a triangular opening corresponding exactly to the size of the mist gun. This opening can be closed by a lid.

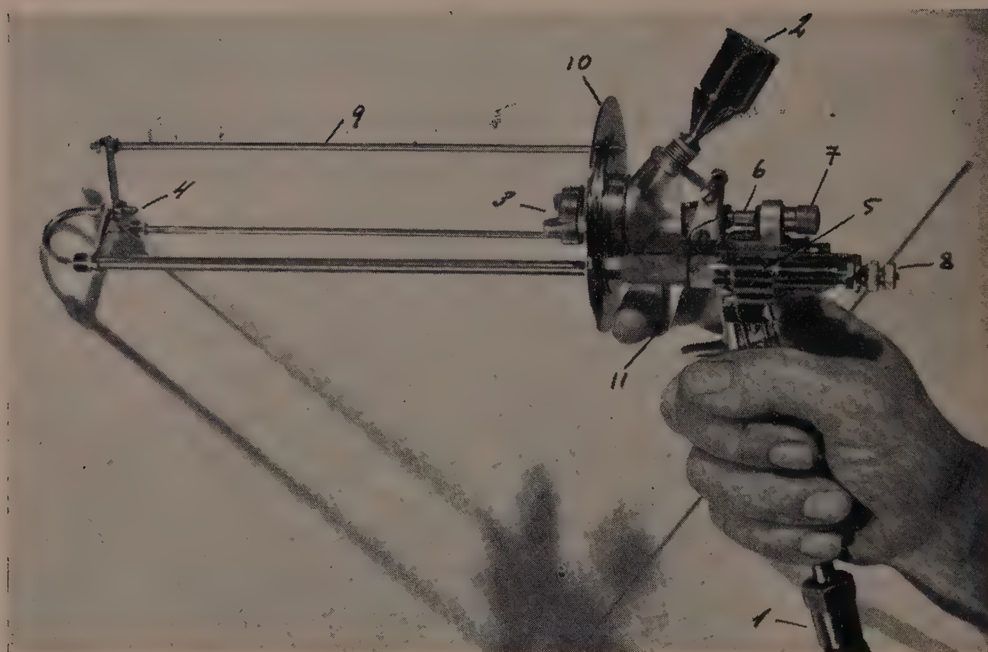


Fig. 1: 1 Connecting piece for compressed air tube
2 Container for solution
3 Nozzle (sprays solution + air)
4 Nozzle (blows compressed air)
5 Connexion between compressed air tube and nozzle 4
6 Pin
7 Screw regulating amount of sprayed solution
8 Screw regulating amount of compressed air
9 Metal rod
10 Metal disk
11 Tumbler of gun

It appears to be advantageous that the volume of this box should not be larger than 50 litres. Nearly all examples mentioned in this paper were made with a 20-litres box. Before each experiment each box is always covered with thin paper on which there is no trace of insecticide. The top of the box is closed by a glass plate. The paper is fixed by drawing-pins (e.g. color fix system).

2. Technique

The experimentator should have several such exposure boxes ready for use.

The chemical to be tested is diluted in a suitable solvent and the solution poured into the container (2). Experience showed that for boxes of 20 litres 0.5 to 1 ml of solution was a convenient amount. The solution is sprayed with an air pressure of 1 kg/cm², the gun being introduced into the box as described above. The circular plate (10) is slightly pressed against the side of the box.

Immediately after the spraying of the solution the test insects (e. g. *Musca domestica* L.) are introduced into the box; they were kept ready in the test-tubes and duly counted. A slight moving of the glass plate on the top of the box permits the

introduction of the test-tube, and the flies are forced into the box by a rapid movement. The insecticide is very regularly distributed within the box, thanks to the aerolization occurring before the introduction of the insects. After some practice and when working with a chronometer it is possible to spray 4 boxes in rapid succession. The mist gun should be cleaned with a pure solvent after each test with another active ingredient or when the same product is being used at different concentrations.

The checking can be done at various moments. It can either be done when 50% of the insects are lying on their back or when 100% have been knocked down. It can also be done after a given time, the knocked down insects being counted. The insects are put into clean test-tubes when the experiment is concluded, the rate of mortality being determined later.

Well-trained operators can perform 40 to 50 determinations in a day. The large number of figures obtained thus give average values that can be used for statistical calculation.

3. Examples

3.1 *Comparison of the knock-down action of various insecticides with that of DDT-active ingredient*

0.1, 1, 2.5 and 5% solutions of DDT-active ingredient in kerosene were compared with equal concentrations of four insecticides designated by A, B, C, and D.

0.5 ml of each solution was aerozolized in boxes of 20 litres. Every test was performed four times, each with 50 flies (normally sensitive *Musca domestica* L.) Age: 3 to 5 days. Temperature: 19 to 21°C. The 50% knock-down was determined. Table 1 gives the arithmetical means of four tests.

Table 1

Concentration in percent	Insecticides				
	DDT-active ingredient	A	B	C	D
0.1	33′ 5″	26′ 10″	14′ 25″	21′ 50″	16′ 5″
1.0	16′ 40″	9′ 25″	4′ 30″	17′ 50″	5′ 20″
2.5	11′ 40″	6′ 15″	3′ 50″	11′ 55″	3′ 55″
5.0	8′ 15″	5′ 10″	2′ 50″	8′ 25″	3′ 10″

The five insecticides are easily differentiated by their knock-down effect.

3.2 *Differentiation between 2 pyrethrum extracts*

According to official data, the two pyrethrum extracts to be tested have the following composition:

Extract (A): 2% of pyrethrin
Extract (B): 20% of pyrethrin

Kerosene solutions were prepared with these two extracts, namely:

Product No. 1, solution of extract (A) containing 0.02% of pyrethrin
Product No. 2, solution of extract (A) containing 0.05% of pyrethrin
Product No. 3, solution of extract (B) containing 0.02% of pyrethrin
Product No. 4, solution of extract (B) containing 0,05% of pyrethrin

The four solutions were examined as to their knock-down action on *Musca domestica* L.

The products were tested twice, each time with 50 flies (normal strain) at two different moments. The time was noted when 50% of the flies had been knocked down. Age of the flies: 3 days. Temperature: 21 to 22°C. Dosage: 0,5 ml of solution.

TABLE 2

	First Test		Second Test	
	measured time	average	measured time	average
Product No 1: 0.02 °/₀ pyr. . . (2 °/₀ extract)	21′ 40″ 21′ 50″	21′ 45″	22′ 25″ 22′ 35″	22′ ″30
Product No. 2: 0.05 °/₀ pyr. . . (2 °/₀ extract)	7′ 20″ 7′ 30″	7′ 25″	8′ 8′ 10″	8′ 5″
Product No. 3: 0.02 °/₀ pyr. . . (20 °/₀ extract)	9′ 40″ 9′ 50″	9′ 45″	11′ 5″ 10′ 10″	10′ 37″
Product No. 4: 0.05 °/₀ pyr. . . (20 °/₀ extract)	6′ 30″ 6′ 40″	6′ 35″	6′ 20″ 6′ 30″	6′ 25″

The results show that the 20% pyrethrum extract is more effective than the 2% extract, since the first one acts more rapidly than the second one with the same amount of pyrethrin.

3.3 *Testing the knock-down action of an insecticide in a series of dilutions.*

A series of solutions in kerosene is prepared with an insecticide ranging from 0.001% to 1%; these solutions are examined as to their knock-down action on house-flies. The tests were performed three times, each with 50 highly resistant flies (strain K_1) aged 3 days. One ml of solution was sprayed in a volume of 40 l. The temperature was 20 to 21°C. The insecticidal action of the products was estimated by counting the number of flies that had been knocked down at certain time intervals, expressing the knock-down percentage. Table 4 summarizes these results and gives the arithmetic mean.

Using the described method the various concentrations of an insecticide can be very easily differentiated.

3.4 *Comparison between the knock-down action against mosquitos of various insecticides and lindane.*

The insecticides were prepared as a 1% solution in kerosene. The mist gun described above was used to aerosolize 0.5 ml of solution in a box of 20 litres. Each test was performed twice, every time with 20 *Aedes aegypti* and *Culex molestus*. The

TABLE 3

Knock-down percentage after minutes	Percentage of an insecticide in solution						
	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001
5	100	51	7	3	3	1	1
10		99	81	20	7	1	1
15		100	100	70	27	2	3
20				78	45	4	3
25				95	67	7	5
30				97	75	9	5
40				98	88	19	7
50				99	97	31	20
60				100	97	49	33

TABLE 4

Knock-down percentage after minutes	1 % insecticide in kerosene									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	lindane
			Action on *Aedes aegypti*							
5	21	57	52	48	24	34	47	30	100	75
10	42	85	77	100	50	57	85	47		100
15	66	97	100		84	71	100	60		
20	76	100			89	77		100		
25	82				100	87				
30	97					100				
40	100									
			Action on *Culex molestus*							
5	0	5	10	0	0	0	10	10	100	22
10	15	30	25	40	0	10	20	15		38
15	20	40	50	45	0	15	100	25		100
20	40	45	60	75	10	30		30		
25	40	65	95	85	10	55		45		
30	80	95	95	90	15	60		90		
40	90	95	100	100	20	60		100		
50	90	100			45	65				
60	100				75	70				

temperature was 20 to 21°C. The same method of evaluation was used as described in paragraph 3.3, i. e. The number of knocked down insects was counted at certain intervals of time following application. Table 4 gives the arithmetic mean of the figures obtained for both tests.

The active ingredients can be differentiated from each other with both species of mosquitos as test insect. It is interesting to note that *Aedes aegypti* is more sensitive than *Culex molestus*.

C. Kocher and J. Treboux
Laboratories of J. R. Geigy. S. A., Basle

Direttore responsabile: Dott. E. Mosna

Soc. An. Poligrafica Italiana Roma. Via della Guardiola, 22

INDICE DEL VOLUME XVII

1956